



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

VICTOR PEREZ TEIXEIRA

REBAMIPIDE ASSOCIADO OU NÃO AO RABEPRAZOL FALHOU NA PREVENÇÃO  
DE GASTRITE MEDICAMENTOSA INDUZIDA PELO NAPROXENO: ESTUDO  
CLÍNICO RANDOMIZADO

REBAMIPIDE WITH OR WITHOUT RABEPRAZOLE FAILED ON THE PREVENTION  
OF INDUCED GASTRITIS: A RANDOMIZED CONTROLLED STUDY

CAMPINAS

2019

VICTOR PEREZ TEIXEIRA

REBAMIPIDE ASSOCIADO OU NÃO AO RABEPRAZOL FALHOU NA PREVENÇÃO  
DE GASTRITE MEDICAMENTOSA INDUZIDA PELO NAPROXENO: ESTUDO  
CLÍNICO RANDOMIZADO

REBAMIPIDE WITH OR WITHOUT RABEPRAZOLE FAILED ON THE PREVENTION  
OF INDUCED GASTRITIS: A RANDOMIZED CONTROLLED STUDY

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas  
da Universidade Estadual de Campinas como parte  
dos requisitos exigidos para a obtenção do título de  
Doutor em Farmacologia.

Thesis presented to the Faculty of Medical  
Sciences of the State University of Campinas as  
part of the requirements required to obtain the PhD  
in Pharmacology

ORIENTADOR: PROF. DR. GILBERTO DE NUCCI

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pelo aluno Victor Perez Teixeira e  
orientada pelo Prof. Dr. Gilberto de Nucci

CAMPINAS

2019

**Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s):** Não se aplica.

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2726-157X>

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas  
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Teixeira, Victor Perez, 1982-  
T235r      Rebamipide associado ou não ao rabeprazol falhou na prevenção de  
gastrite medicamentosa induzida pelo naproxeno : estudo clínico randomizado /  
Victor Perez Teixeira. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Gilberto de Nucci.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Ciências Médicas.

1. Anti-inflamatórios. 2. Voluntários saudáveis. 3. Estudo clínico. 4.  
Ciclooxigenase 1. 5. Gastrite. I. De Nucci, Gilberto, 1958-. II. Universidade Estadual  
de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

#### Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Rebamipide with or without rabeprazole failed on the prevention of induced gastritis : a randomized controlled study

**Palavras-chave em inglês:**

Anti-inflammatory agents

Healthy volunteers

Clinical study

Cyclooxygenase 1

Gastritis

**Área de concentração:** Farmacologia

**Titulação:** Doutor em Farmacologia

**Banca examinadora:**

Gilberto de Nucci [Orientador]

Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins

José Cássio de Almeida Magalhães

André Almeida Schenka

Natalícia de Jesus Antunes

**Data de defesa:** 01-02-2019

**Programa de Pós-Graduação:** Farmacologia

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO**  
**VICTOR PEREZ TEIXEIRA**

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Nucci**

**MEMBROS:**

**1. Prof. Dr. Gilberto de Nucci**

**2. Prof. Dr. Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins**

**3. Prof. Dr. José Cassio de Almeida Magalhães**

**4. Prof. Dr. André Almeida Schenka**

**5. Profa. Dra. Natalícia de Jesus Antunes**

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas

A ata de defesa com as respectivas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de  
Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

**Data: 01 de fevereiro de 2019**

## AGRADECIMENTOS

Além do meu orientador, Prof. Dr. Gilberto de Nucci, algumas pessoas foram essenciais no processo de elaboração deste trabalho, bem como no meu desenvolvimento acadêmico e profissional. Agradeço ao Prof. Dr. Gustavo Duarte Mendes por todas as oportunidades de crescimento e orientação, Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno por todo auxílio na redação do trabalho e apoio durante meu doutorado, Prof. Dr. Angelo Sementilli pelas análises histopatológicas e fotomicrografias inseridas no trabalho e ao Prof. Dr. Thiago Gagliano-Jucá pela revisão crítica do artigo submetido a publicação.

## RESUMO

O naproxeno, assim como outros anti-inflamatórios não esteroidais induzem eventos adversos gastrointestinais, variando desde dispepsia até úlceras do trato gastrointestinal superior e inferior. O rebamipide tem sido descrito com agente gastroprotetor da mucosa gastrointestinal com resultados promissores na profilaxia e tratamento de úlceras causadas por anti-inflamatórios não esteroidais ou *H. pylori*. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do rebamipide nas lesões gástricas induzidas pelo naproxeno em voluntários saudáveis, tratados também com o inibidor da bomba de prótons, rabeprazol. Após uma endoscopia preliminar a fim de excluir qualquer lesão macroscópica prévia, 32 voluntários saudáveis, de ambos os sexos, foram divididos em 4 grupos. Todos os grupos receberam um comprimido de 550 mg de naproxeno, duas vezes ao dia. Os grupos A e B receberam comprimidos de 20 mg de rabeprazol uma vez ao dia, enquanto que o C e D receberam comprimidos placebos. Grupos A e C receberam 300 mg de rebamipide efervescente duas vezes ao dia, enquanto que o B e D receberam placebos efervescentes. Todos os tratamentos foram conduzidos por 7 dias consecutivos. Os voluntários foram randomizados utilizando 4 blocos de 8 sujeitos cada. Ao fim do tratamento, uma nova endoscopia foi realizada. A avaliação gástrica macroscópica foi avaliada pelo score de Cryer. Biopsias foram coletadas em ambas endoscopias para análise histopatológica. O score de Cryer para todos os voluntários, antes do tratamento, foi zero, entretanto, após o uso do naproxeno, os scores foram acima de 3, independente do grupo experimental. Os piores resultados foram obtidos no grupo D, o qual usou naproxeno e placebos para outras drogas. Três pacientes foram classificados na graduação máxima, com a presença de múltiplas úlceras e hemorragia submucosa ou edema. O score de Cryer médio foi 3,75 (3-4) no grupo A, 3,75 (3-4) no grupo B, grupo C 3,625 (3-4) e 4,125 (3-5) no grupo D. Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,3748$ ) no uso do rebamipide associado ou não ao rabeprazol, quando comparado ao uso isolado do naproxeno, na prevenção de lesões mucosas gastrointestinais. A associação do rabeprazol e rebamipide não foi capaz de prevenir a ocorrência de lesões gástricas em voluntários saudáveis tratados com 1100 mg diários de naproxeno por 7 dias consecutivos.

Palavras chave: Anti-Inflamatórios; Voluntários Saudáveis; Estudo Clínico; Ciclo-Oxigenase 1; Gastrite.

## ABSTRACT

Naproxen and other non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs induce gastrointestinal (GI) adverse events ranging from dyspepsia to upper and lower GI tract ulcers. Rebamipide has been described as a GI mucosal protector agent with promising results in prophylaxis and treatment of GI ulcers caused by NSAIDS or *H. pylori*. The objective of this trial was to evaluate the effect of rebamipide in the naproxen-induced gastric damage in healthy volunteers treated also with the proton pump inhibitor rabeprazole. After a preliminary endoscopy to rule out previous gastric macroscopic damage, 32 healthy volunteers of both sexes were divided into 4 groups. All groups received 550 mg of Naproxen tablet twice a day. Groups A and B received 20 mg of rabeprazole tablet once a day, while C and D received placebo tablets. Groups A and C received 300 mg of effervescent rebamipide twice a day, while groups B and D received effervescent placebo. All treatments were performed in 7 consecutive days. The volunteers were randomized using 4 blocks of 8 subjects each. At the end of treatment, a new endoscopy was performed. Gastric macroscopic damage was evaluated by the Cryer score. Biopsies were collected at both endoscopies for histopathological analysis. The Cryer's score of all subjects before the treatments was zero, notwithstanding, after the use of naproxen, the scores were higher than 3, independently of the experimental group. The worst results were obtained on group D, which used naproxen and placebos of the other drugs. Three patients were classified at the maximum grade, with presence of multiples ulcers and sub mucosal hemorrhage or edema. The median score of Cryer was 3.75 (3 – 4) in group A, 3.75 (3 – 4) in group B, group C 3.625 (3 – 4) and 4.125 (3 – 5) in group D. There was no statistically significant ( $p=0.3748$ ) difference when the use of rebamipide or/and rabeprazole was compared with the isolated use of naproxen in the prevention of gastrointestinal mucosal lesions. The association of rabeprazole with rebamipide was not able to prevent the occurrence of gastric lesions in healthy volunteers treated with 1100 mg daily of naproxen for seven consecutive days.

Key words: Anti-Inflammatory Agents; Healthy Volunteers; Clinical Study; Cyclooxygenase 1; Gastritis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Esquema originalmente proposto por J. R. Vane. Observe que neste momento considerava-se apenas a existência de uma cicloxigenase.

FIGURA 2 - Metabolismo do ácido araquidônico considerando a atuação da COX-1 e COX-2 e seus respectivos efeitos

FIGURA 3 - Atuação dos fatores protetores gástricos e da mucosa duodenal.

FIGURA 4 - Mecanismos de ação atribuídos ao rebamipide.

FIGURA 5 - Mecanismo de secreção ácida das células parietais.

FIGURA 6 - Distribuição dos voluntários e tratamentos.

FIGURA 7 - Endoscopia previa ao tratamento (A, C e E) e pós-tratamento (B, D e F) com naproxeno no voluntário 27 (Grupo D). Observar as múltiplas erosões e áreas de hemorragia submucosa nas imagens pós-tratamento.

FIGURA 8 - Erosão: Perda de continuidade da camada epitelial (seta) e processo inflamatório crônico adjacente (HE 100x).

FIGURA 9 - Foco hemorrágico na lâmina própria superficial (HE 400x).

FIGURA 10 – Espaços claros na lâmina própria com diminuição das glândulas indicando edema (HE 400x).

FIGURA 11 - Edema submucoso e congestão vascular. Observar o capilar ectasiado e repleto de hemácias (seta) (HE 400x).

FIGURA 12 – Distribuição dos scores de Cryer e histopatológicos nos grupos experimentais.



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Graduação de lesões macroscópicas gastroduodenais sugerida por Cryer.

TABELA 2 - Scores utilizados para graduação da inflamação da mucosa gástrica.

TABELA 3 - Distribuição de idade, altura, peso e IMC nos voluntários do sexo masculino.

TABELA 4 - Distribuição de idade, altura, peso e IMC nos voluntários do sexo feminino.

TABELA 5 – Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo A.

TABELA 6 – Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo B.

TABELA 7 – Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo C.

TABELA 8 - Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo D.

TABELA 9 - Distribuição dos eventos adversos em relação ao dia do tratamento e grupos experimentais.

TABELA 10 - Artigos que utilizaram métodos gastroprotetores contra o uso de AINES ou dissecação submucosa.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EUA - Estados Unidos da América

AINES – Anti-inflamatórios Não Esteroidais

D.C. – Depois de Cristo

COX-1 – cicloxigenase 1

COX-2 – cicloxigenase 2

H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase

IBP - Inibidores da Bomba de Prótons

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

β-HCG – Beta-Gonadotrofina Coriônica Humana

HE – Hematoxilina e Eosina

ANOVA - *One-way Analyses of Variance*

IMC - Índice de Massa Corpórea

n.a. – Não Avaliado

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

® - Marca Registrada

H<sup>+</sup> - Hidrogênio

K<sup>+</sup> - Potássio

mg - Miligrama

h - Hora

> - Maior

< - Menor

± - Mais ou Menos

p – Nível Descritivo

kg – Quilograma

cm – Centímetros

m<sup>2</sup> – Metro Quadrado

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	13
1.1	DOR CRÔNICA .....	13
1.2	ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS .....	13
1.2.1	HISTÓRIA .....	13
1.2.2	MECANISMO.....	14
1.3	INTEGRIDADE DO TRATO GASTROINTESTINAL SUPERIOR.....	15
1.4	PREVENÇÃO DAS LESÕES GASTROINTESTINAIS .....	17
1.4.1	REBAMIPIDE.....	17
1.4.2	INIBIDORES DE BOMBA DE PRÓTONS (H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase) .....	18
2	OBJETIVO.....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	21
3.1	DESENHO DO ESTUDO .....	21
3.2	VOLUNTÁRIOS .....	21
3.3	TRATAMENTO.....	21
3.4	AVALIAÇÃO DA LESÃO GASTROINTESTINAL.....	23
3.5	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA .....	23
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	24
4	RESULTADOS .....	25
5	DISCUSSÃO.....	38
6	CONCLUSÃO .....	41
7	REFERÊNCIAS .....	42
8	APÊNDICES .....	48

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 DOR CRÔNICA

Aproximadamente 25,3 milhões de adultos nos Estados Unidos da América (EUA) sofrem de dores crônicas diárias<sup>1</sup>. Na Europa, a fração da população acometida por esta condição alcança 27%<sup>2</sup>. Enquanto que no Brasil estima-se que 39% da população, com predomínio de mulheres (56%) convivam com esta condição<sup>3</sup>.

Dois grupos farmacológicos são usados para o controle de tais dores: anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e analgésicos opioides<sup>4</sup>. Destes, os AINES tornaram-se as drogas mais utilizadas em todo mundo, devido ao seu baixo potencial abusivo, efetividade e longa história de uso na medicina<sup>5</sup>.

### 1.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIS

#### 1.2.1 HISTÓRIA

A história dos anti-inflamatórios remete a cerca de 400 anos depois de Cristo (D.C.), onde Hipocrates relatou efeitos benéficos do extrato de salgueiro para tratamento da inflamação e febre. Muito tempo depois, no século 17, foi identificado o princípio ativo como salicilatos. A produção industrial do ácido salicílico iniciou-se na Alemanha, através da companhia Kolbe em 1860, porém foi em 1899 que a Bayer introduziu a Aspirina® no mercado, que era muito mais palatável que seu concorrente<sup>6</sup>. Apesar de ser uma das drogas mais utilizadas até hoje no mundo, seu mecanismo de ação permaneceu desconhecido até a década de 70, quando John Robert Vane publicou seu artigo intitulado *Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs*, esclarecendo ao mundo o porquê dos efeitos dos AINES<sup>7,8</sup>.

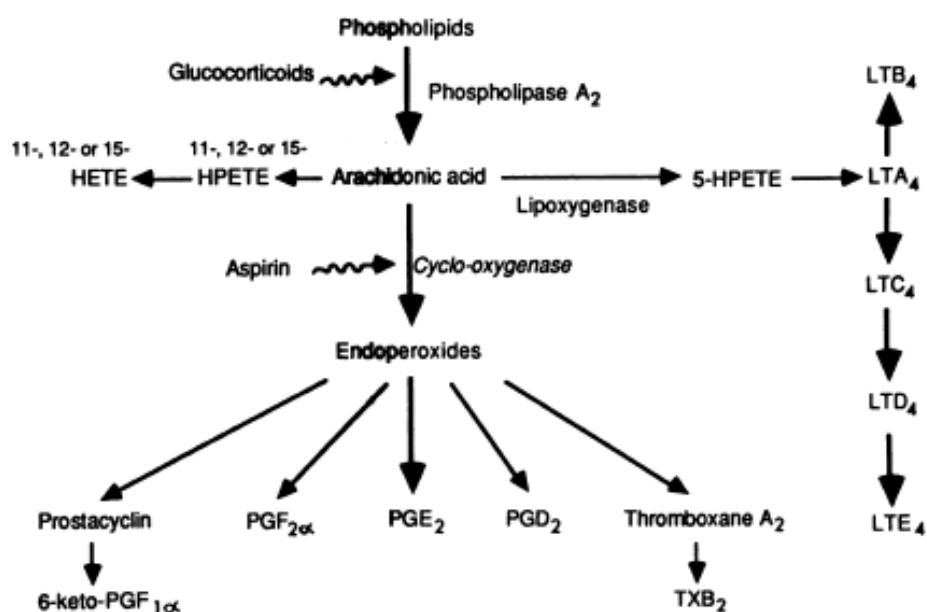


FIGURA 1 – Esquema originalmente proposto por J. R. Vane. Observe que neste momento considerava-se apenas a existência de uma cicloxigenase<sup>9</sup>.

A compreensão de que havia mais de uma isoenzima cicloxigenase veio apenas na década de 90, quando, por conta de suas funções no organismo, foram chamadas a época de constitutiva (COX-1) e induzida (COX-2)<sup>10</sup>.

### 1.2.2 MECANISMO

O mecanismo de ação dos AINES consiste na prevenção da interação do ácido araquidônico com as enzimas cicloxigenase-1 (COX-1) e cicloxigenase-2 (COX-2)<sup>11</sup>. A COX-1 catalisa a produção de prostaglandinas envolvidas em algumas funções fisiológicas, como a manutenção da função renal normal nos rins, agregação plaquetária por tromboxano A2 e proteção da mucosa do trato gastrointestinal<sup>6,11</sup>. Por outro lado, acredita-se que a COX-2 tenha papel mediador sobre a dor, inflamação e febre<sup>11,12</sup>.

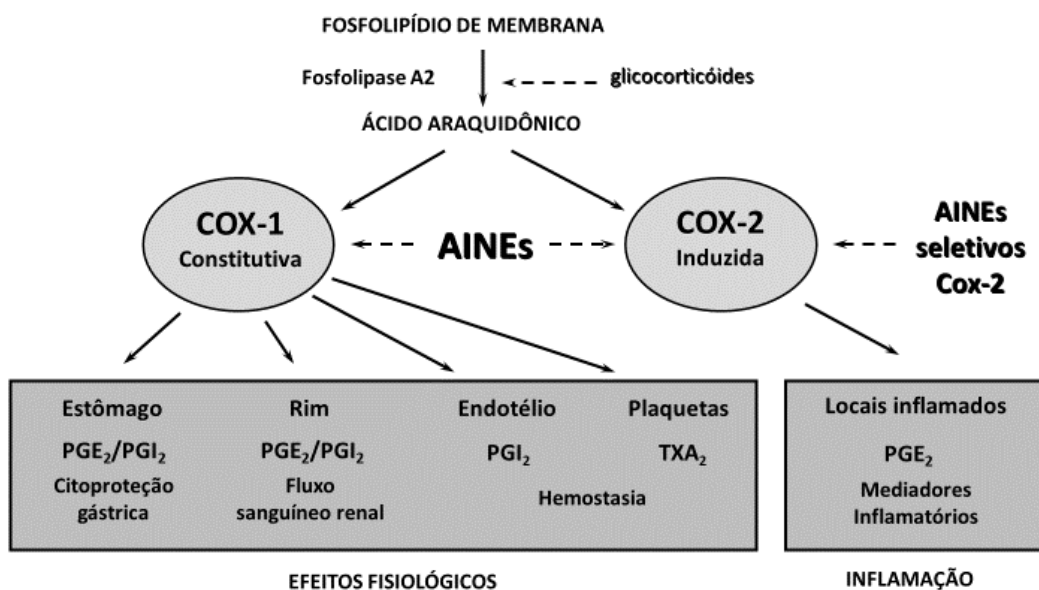


FIGURA 2 – Metabolismo do ácido araquidônico considerando a atuação da COX-1 e COX-2 e seus respectivos efeitos<sup>13-15</sup>.

Deste modo, apesar de sua efetividade, os AINES podem danificar o trato gastrointestinal<sup>16</sup>, incluindo lesões que podem variar desde pequenas e imperceptíveis até úlceras macroscopicamente visíveis<sup>17</sup>. Adicionalmente, os AINES podem induzir alterações na microbiota, as quais são potencialmente danosas à mucosa gastrointestinal<sup>18</sup>.

### 1.3 INTEGRIDADE DO TRATO GASTROINTESTINAL SUPERIOR

A integridade do trato digestivo superior é dependente de um balanço entre agentes agressivos e mecanismos protetivos<sup>19</sup>. Enquanto que a secreção gástrica ácida é uma das importantes barreiras bacteriológicas (devido ao seu pH que pode alcançar 1,0 no pico máximo secretório), este meio ácido pode ser danoso à mucosa, onde sua camada basal possui pH de 7,0<sup>20</sup>. Por este motivo, sistema digestivo precisa ter a capacidade de suportar, não apenas o potencial corrosivo do ácido clorídrico, mas também a pepsina endógena e outros fatores exógenos como álcool e drogas. Para se proteger deste ambiente ácido, a mucosa secreta mucina gástrica (glicoproteína mucosa), formando uma barreira protetora. Entretanto, seu sucesso também depende da presença de outros componentes mucinosos, como ácidos graxos altamente hidrofóbicos associados à mucina, assim como também de glicoproteínas, prostaglandinas e peptídeos de crescimento não mucinosos<sup>19</sup>. Os AINES podem alterar o equilíbrio do sistema gastrointestinal por diminuição da produção das prostaglandinas, através da inibição da

isoenzima COX-1, que ocorre no uso de AINES não seletivos<sup>14</sup>. A inibição enzimática da COX-1 impacta a mucosa estomacal de diversas maneiras: reduz a formação da barreira protetora (através da diminuição da produção e secreção de mucina e muco), afeta a regulação mucosa do pH (através da diminuição da secreção de bicarbonato e aumento da secreção de ácido) e diminui a perfusão sanguínea na mucosa<sup>15,19</sup>.

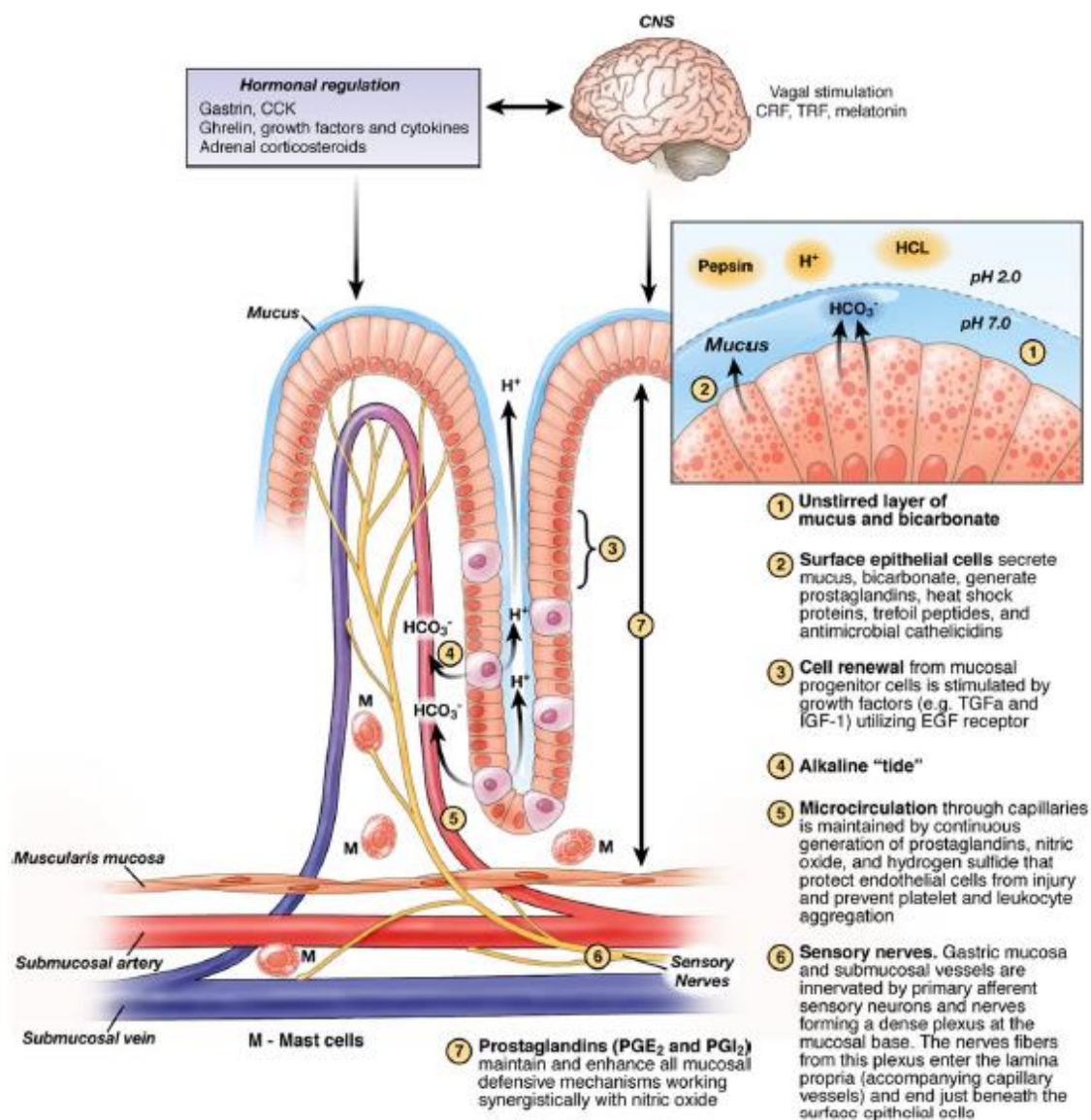


FIGURA 3 – Atuação dos fatores protetores gástricos e da mucosa duodenal<sup>20</sup>.

Adicionalmente, os AINES têm sido implicados em alterações na permeabilidade mitocondrial induzindo fosforilação oxidativa<sup>21</sup> e estresse oxidativo, levando a apoptose destas células, o que acaba por levar a perda da integridade mucosa<sup>22</sup>. O aumento da permeabilidade da mucosa, resultado destas alterações, culmina no recrutamento neutrofílico, indução da inflamação e ulcerações por atividade da mieloperoxidase<sup>17,23</sup>.



## 1.4 PREVENÇÃO DAS LESÕES GASTROINTESTINAIS

A prevenção destes efeitos tem sido um desafio para àqueles pacientes que necessitam do uso constante de AINES. Uma das drogas sugeridas na literatura para este propósito é o rebamipide.

### 1.4.1 REBAMIPIDE

O rebamipide é uma droga gastroprotetora desenvolvida no Japão no final da década de 80 para tratamento de úlceras pépticas<sup>24</sup>. Seu mecanismo de ação baseia-se na indução da produção de prostaglandinas e muco, inibição de citocinas inflamatórias, diminuição de espécies reativas de oxigênio e da ativação neutrofílica<sup>25</sup>. Diversos estudos demonstraram efeitos protetores em lesões gastrointestinais induzidas por AINES<sup>15,26-28</sup>.

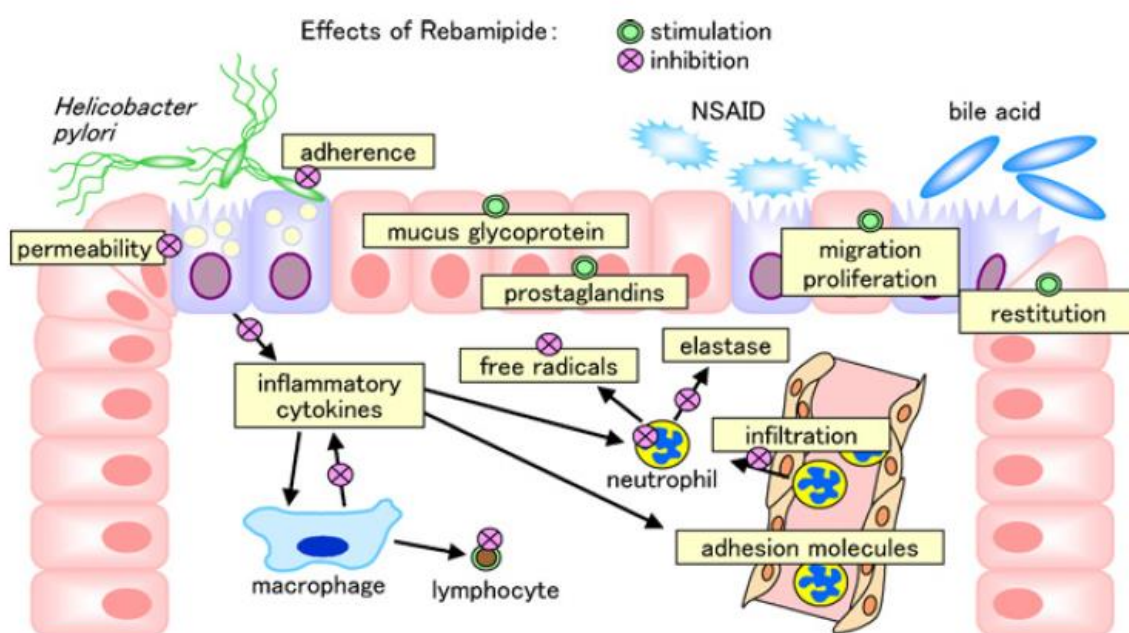


FIGURA 4 – Mecanismos de ação atribuídos ao rebamipide<sup>25</sup>.

Apesar destes resultados animadores, nosso grupo não observou qualquer efeito gastroprotetor do rebamipide em um modelo de lesão gastrointestinal induzida por naproxeno em voluntários brasileiros saudáveis<sup>29</sup>.

#### 1.4.2 INIBIDORES DE BOMBA DE PRÓTONS ( $H^+/K^+$ ATPase)

Outra classe de drogas, largamente utilizadas na tentativa de prevenção e tratamento da gastrite induzida por medicamentos, é a dos inibidores de bomba de prótons ( $H^+/K^+$  ATPase). O pioneiro desta classe foi o omeprazol, seguido pelo lansoprazol, pantoprazol e, mais recentemente, rabeprazol<sup>30</sup>. Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição irreversível da  $H^+/K^+$  ATPase, reduzindo a secreção ácida basal e a estimulada pela alimentação<sup>19</sup>.

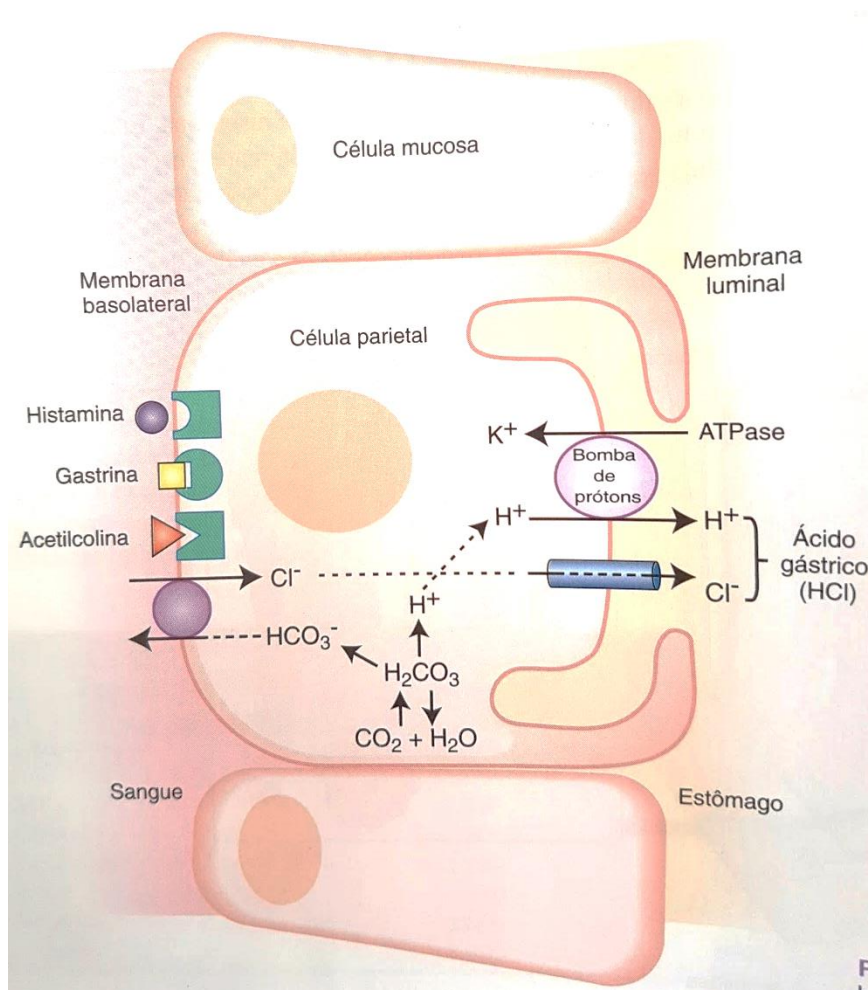


FIGURA 5 – Mecanismo de secreção ácida das células parietais<sup>31</sup>.

Os inibidores da bomba de prótons (IBP) são descritos na literatura como efetivos na reversão dos efeitos deletérios das drogas anti-inflamatórias<sup>19,30,32</sup> e de bom custo benefício com associado aos AINES<sup>33</sup>. Por conta destes benefícios, as drogas desta classe têm sido indicadas profilaticamente em pacientes de alto risco para o desenvolvimento de lesões gastrointestinais resultantes do uso de AINES<sup>34</sup>. Além disto, uma meta-análise em 2014 demonstrou que há resultados melhores no uso associado de rebamipide com IBP quando comparados ao uso destas drogas isoladas no tratamento de úlceras pépticas<sup>35</sup>. Desta forma, a

adição de um IBP poderia permitir a observação de algum efeito gastroprotetor na população brasileira.

## 2 OBJETIVO

Avaliar o efeito gastroprotetor do rebamipide associado ou não ao rabeprazol na prevenção de lesões gástricas induzidas pelo uso do naproxeno em voluntários saudáveis.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo clínico, fase III, monocêntrico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade de São Paulo, sob o número 1.006.342 e registrado no ClinicalTrials.gov (NCT03658473).

#### 3.2 VOLUNTÁRIOS

Voluntários de ambos os sexos, maiores de 18 anos de idade, sem qualquer patologia significativa cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal ou hematológica, assim determinado por sua história médica, exame físico e testes laboratoriais de rotina (hematológicos, bioquímicos sanguíneos, análises de urina e sangue oculto nas fezes), foram convidados a participar deste estudo clínico, fase III, monocêntrico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Todos os sujeitos testaram negativos para hepatite B e C (exceto para cicatriz sorológica), assim como para HIV I e II, e foram instruídos a se abster do uso de qualquer medicação, incluindo as isentas de prescrição, por duas semanas prévias e durante o estudo. Gravidez foi um critério de exclusão, desta forma todas as mulheres testaram negativas para  $\beta$ -HCG. Todos os voluntários foram informados sobre o objetivo e possíveis riscos do estudo pelo examinador clínico e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes da inclusão na pesquisa. Este estudo foi conduzido de acordo com as orientações da Declaração de Helsinki e suas revisões<sup>36</sup>.

Todos foram submetidos a endoscopias gastroduodenais prévias no Hospital Vera Cruz (Campinas, Brasil) para descartar qualquer lesão GI macroscópica anterior, sendo incluídos 32 voluntários. Outros critérios de exclusão foram acloridria ( $\text{pH} > 6,5$ ) ou sangue oculto nas fezes.

#### 3.3 TRATAMENTO

Os voluntários foram randomicamente divididos em 4 grupos de tratamento (FIGURA 6). Todos os grupos receberam um comprimido de 550 mg de naproxeno (Flanax® – Roche) duas vezes ao dia. Grupos A e B receberam um comprimido de 20 mg de rabeprazol (Biolab Sanus Farmacêutica Ltda.) uma vez ao dia, enquanto que o C e D receberam comprimidos placebo. Grupos A e C receberam 300 mg efervescentes de rebamipide (Biolab

Sanus Farmacêutica Ltda.) duas vezes ao dia, enquanto que o B e C receberam placebo efervescente. Todos os tratamentos tiveram duração de 7 dias consecutivos. Os voluntários foram randomizados utilizando 4 blocos de 8 sujeitos cada.

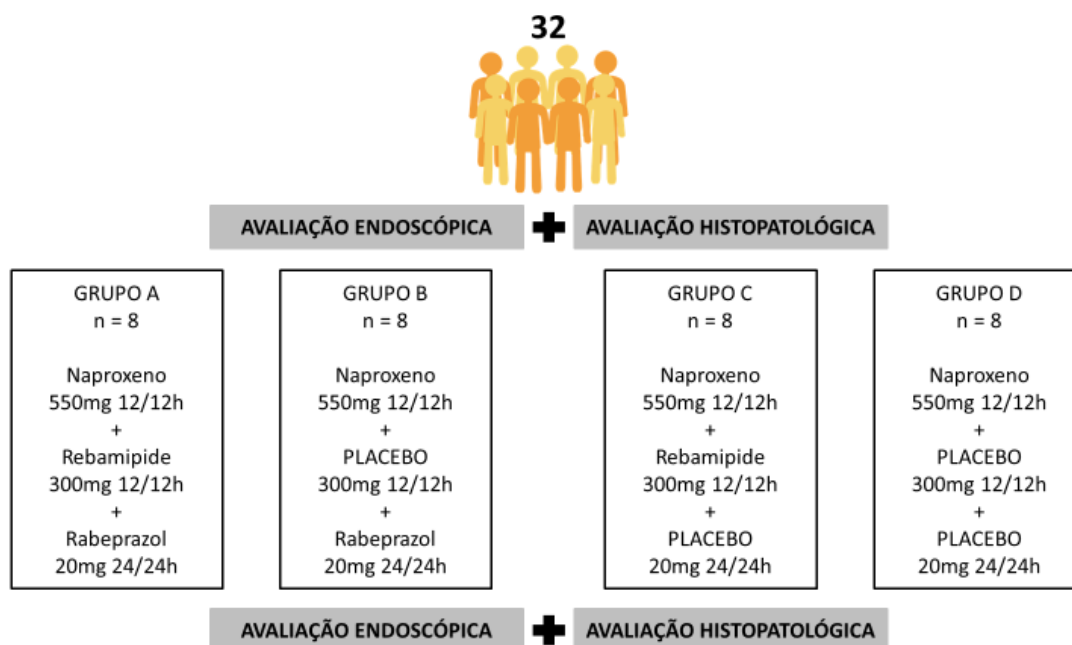


FIGURA 6 – Distribuição dos voluntários e tratamentos.

Voluntários eram cegos quanto ao tratamento. Para assegurar a aderência, as drogas eram administradas por um membro do grupo de pesquisa (também cego à distribuição dos medicamentos) na manhã (07 às 08h) e à noite (19 às 20h) durante toda a duração do estudo. Uma farmacêutica foi responsável por nomear os tratamentos com A, B, C ou D, e por revelar o conteúdo após o término do estudo.

Os voluntários foram orientados a se apresentar em jejum pela manhã, sendo permitida a alimentação após 2 horas da administração das medicações. À noite, os voluntários eram instruídos a retornar com pelo menos 2 horas da última ingestão de alimentos e que voltassem a se alimentar após 2 horas da dose.

As reações adversas eram individualmente avaliadas. A relação de casualidade ao tratamento era determinada com o auxílio do algoritmo de Karch & Lasagna<sup>37</sup>. A necessidade de interrupção do tratamento ou terapia específica era individualmente analisada pelo investigador principal dependendo da severidade da reação e possível relação de casualidade ao tratamento.

### 3.4 AVALIAÇÃO DA LESÃO GASTROINTESTINAL

Endoscopias gastroduodenais foram executadas antes do início do estudo e na manhã do oitavo dia de tratamento em todos os voluntários. Todos os exames foram feitos pelo mesmo especialista que também estava cego aos tratamentos. O primeiro desfecho avaliado neste estudo foi o grau de lesão macroscópica observada ao final do tratamento. As erosões foram contadas e outras alterações graduadas de acordo com Cryer<sup>38</sup> (TABELA 1).

Score	Alterações mucosas gastroduodenais
0	Normal ou eritema
1	Qualquer quantidade de hemorragia submucosa ou edema sem erosões
2	1 erosão ± hemorragia submucosa ou edema
3	2-4 erosões ± hemorragia submucosa ou edema
4	> 5 erosões e / ou úlcera única ± hemorragia submucosa ou edema
5	Múltiplas úlceras ± hemorragia submucosa ou edema

TABELA 1 – Graduação de lesões macroscópicas gastroduodenais sugerida por Cryer<sup>38</sup>.

Adicionalmente, um segundo endoscopista avaliou os exames retrospectivamente, cego ao tratamento e também aos scores atribuídos pelo primeiro profissional. Se houvesse alguma diferença entre as graduações, seria obtido uma média dos valores. Em cada um dos exames duas biópsias foram coletadas do antro gástrico e duas do corpo para análise histopatológica.

### 3.5 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

As biópsias do antro e corpo gástrico foram imediatamente colocadas em solução de formaldeído após a coleta. As amostras foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) para caracterização e graduadas de acordo com o grau de inflamação de acordo com o descrito na TABELA 2. O patologista também era cego aos tratamentos.

Score	Achados microscópicos
0	Mucosa gástrica normal ou inflamação crônica moderada
1	Gastrite crônica sem atividade
2	Gastrite crônica com baixa atividade
3	Gastrite crônica com média atividade
4	Gastrite crônica com alta atividade

TABELA 2 – Scores utilizados para graduação da inflamação da mucosa gástrica.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os scores atribuídos aos exames endoscópicos e microscópicos entre os tratamentos foram comparados utilizando o teste *One-way Analyses of Variance* (ANOVA) enquanto que os valores pré e pós tratamento, no mesmo grupo experimental, foram analisados pelo teste t pareado, ambos com o auxílio do software *GraphPad InStat* versão 3.06. O valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo. O tamanho amostral foi de 32 voluntário de ambos os sexos, este número foi escolhido baseado nos efeitos gastroprotetores do rebamipide previamente descritos<sup>39</sup>.



#### 4 RESULTADOS

Todos os 32 voluntários completaram todos os procedimentos do estudo (19 homens). A idade média para os homens foi de 29,1 anos (20 – 55 anos), peso médio de 76,9 kg (57 – 93,03 kg), altura média de 176 cm (167 – 188 cm) e índice de massa corpórea (IMC) médio de 24,82 kg/m<sup>2</sup> (20,44 – 28,73 kg/m<sup>2</sup>) (TABELA 3).

<b>Vol.</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade</b>	<b>Altura</b>	<b>Peso</b>	<b>IMC</b>
<b>1</b>	M	23	1,67	57,00	20,44
<b>2</b>	M	28	1,7	67,00	23,18
<b>3</b>	M	21	1,85	91,00	26,59
<b>4</b>	M	22	1,8	72,00	22,22
<b>7</b>	M	24	1,88	74	20,94
<b>9</b>	M	22	1,73	64,00	21,38
<b>10</b>	M	20	1,82	79,00	23,85
<b>11</b>	M	55	1,71	76,00	25,99
<b>12</b>	M	22	1,72	79,00	26,70
<b>17</b>	M	37	1,70	83,00	28,72
<b>18</b>	M	24	1,74	83,00	27,41
<b>19</b>	M	50	1,71	77,00	26,33
<b>20</b>	M	24	1,75	77,00	25,14
<b>25</b>	M	20	1,78	79,00	24,93
<b>26</b>	M	35	1,75	88,00	28,73
<b>27</b>	M	42	1,75	74,00	24,16
<b>28</b>	M	25	1,81	93,00	28,39
<b>29</b>	M	28	1,78	72,00	22,72
<b>30</b>	M	31	1,80	77,00	23,77
<b>MÉDIA</b>		29,10526	1,760526	76,95	24,82

TABELA 3 – Distribuição de idade, altura, peso e IMC nos voluntários do sexo masculino.

As mulheres tinham idade média de 33,9 anos (22 – 53 anos), peso médio 61,65 kg (52 – 73 kg), altura média de 163 cm (152 – 171 cm) e IMC médio de 23,17 kg/m<sup>2</sup> (19,81 – 27,10 kg/m<sup>2</sup>) (TABELA 4).

<b>Vol.</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade</b>	<b>Altura</b>	<b>Peso</b>	<b>IMC</b>
<b>5</b>	F	24	1,67	56,00	20,08
<b>6</b>	F	23	1,6	54,00	21,09
<b>8</b>	F	31	1,68	71,00	25,16
<b>13</b>	F	48	1,66	63,70	23,12
<b>14</b>	F	40	1,59	59,00	23,34
<b>15</b>	F	22	1,71	73,00	24,96
<b>16</b>	F	53	1,58	62,00	24,84
<b>21</b>	F	23	1,64	56,00	20,82
<b>22</b>	F	28	1,67	65,00	23,31
<b>23</b>	F	33	1,63	72,00	27,10
<b>24</b>	F	33	1,62	53,00	20,20
<b>31</b>	F	39	1,62	64,70	24,65
<b>32</b>	F	44	1,52	52,00	22,51
<b>MÉDIA</b>		33,92308	1,63	61,65	23,17

TABELA 4 – Distribuição de idade, altura, peso e IMC nos voluntários do sexo feminino.

A graduação de Cryer de todos os voluntários antes do tratamento foi zero, contudo, após o uso do naproxeno, todos os valores foram superiores a 3, independente do grupo experimental. Os piores resultados foram observados no grupo D, o qual usou o naproxeno e placebo para as outras drogas. Três pacientes foram classificados na graduação máxima, devido a presença de múltiplas úlceras e hemorragia submucosa ou edema (FIGURA 7).

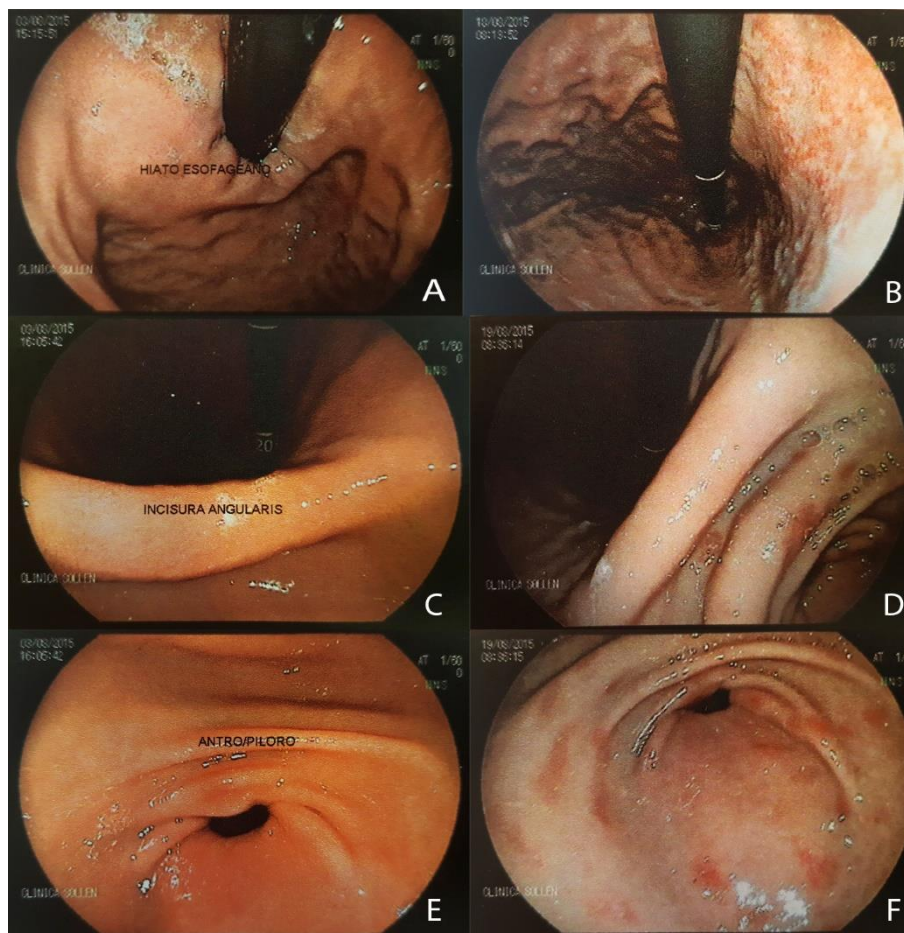


FIGURA 7 – Endoscopia previa ao tratamento (A, C e E) e pós-tratamento (B, D e F) com naproxeno no voluntário 27 (Grupo D). Observar as múltiplas erosões e áreas de hemorragia submucosa nas imagens pós-tratamento.

O score médio de Cryer foi 3,75 (3 – 4) no grupo A (TABELA 5), 3,75 (3 – 4) no grupo B (TABELA 6), 3,625 (3 – 4) no grupo C (TABELA 7) e 4,125 (3 – 5) no grupo D (TABELA 8).

Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,3748$ ) quando comparado o uso do rebamipide e/ou rabeprazol quando comparado ao uso isolado do naproxeno na prevenção de lesões mucosas gastrointestinais.

A respeito da análise histológica dos fragmentos removidos nas endoscopias prévias ao experimento, foi possível observar alterações inflamatórias dos mais variados graus, entretanto, após o tratamento anti-inflamatório, houve piora dos quadros microscópicos de todos os grupos de tratamento (TABELAS 5, 6, 7 e 8).

Grupo Experimental	Voluntários	Antes do tratamento		Pós tratamento	
		Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)	Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)
A Naproxeno + Rebamipide + Rabeprazol	1	0	3	4	4
	2	0	0	4	0
	3	0	3	4	4
	4	0	0	4	4
	5	0	0	3	2
	6	0	3	3	3
	7	0	0	4	4
	8	0	0	4	4
Média		0	1,125	3,75	3,125

TABELA 5 – Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo A.

Grupo Experimental	Voluntários	Antes do tratamento		Pós tratamento	
		Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)	Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)
<b>B</b> <b>Naproxeno</b> + <b>PLACEBO</b> + <b>Rabeprazol</b>	9	0	0	4	4
	10	0	0	3	3
	11	0	3	4	3
	12	0	1	4	3
	13	0	0	4	2
	14	0	2	4	3
	15	0	2	3	4
	16	0	0	4	1
	<b>Média</b>	0	1	3,75	2,875

TABELA 6 – Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo B.

Grupo Experimental	Voluntários	Antes do tratamento		Pós tratamento	
		Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)	Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)
C Naproxeno + Rebamipide + PLACEBO	17	0	2	3	3
	18	0	0	4	0
	19	0	2	3	1
	20	0	0	4	0
	21	0	1	3	1
	22	0	0	4	4
	23	0	4	4	4
	24	0	4	4	3
	<b>Média</b>	0	1,625	3,62	2

TABELA 7 - Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo C.

Grupo Experimental	Voluntários	Antes do tratamento		Pós tratamento	
		Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)	Graduação de Cryer (0-5)	Graduação Histopatológica (0-4)
<b>D</b> <b>Naproxeno</b> + <b>PLACEBO</b> + <b>PLACEBO</b>	25	0	0	4	4
	26	0	0	3	0
	27	0	1	5	4
	28	0	1	5	1
	29	0	0	3	4
	30	0	0	4	0
	31	0	1	4	4
	32	0	1	5	4
<b>Média</b>		0	0,5	4,1	2,625

TABELA 8 - Distribuição das graduações de Cryer e histológicas pré e pós-tratamento no grupo D.

As alterações histológicas variaram de erosões (FIGURA 8), hemorragia submucosa (FIGURA 9), edema (FIGURA 10) à congestão capilar (FIGURA 11).

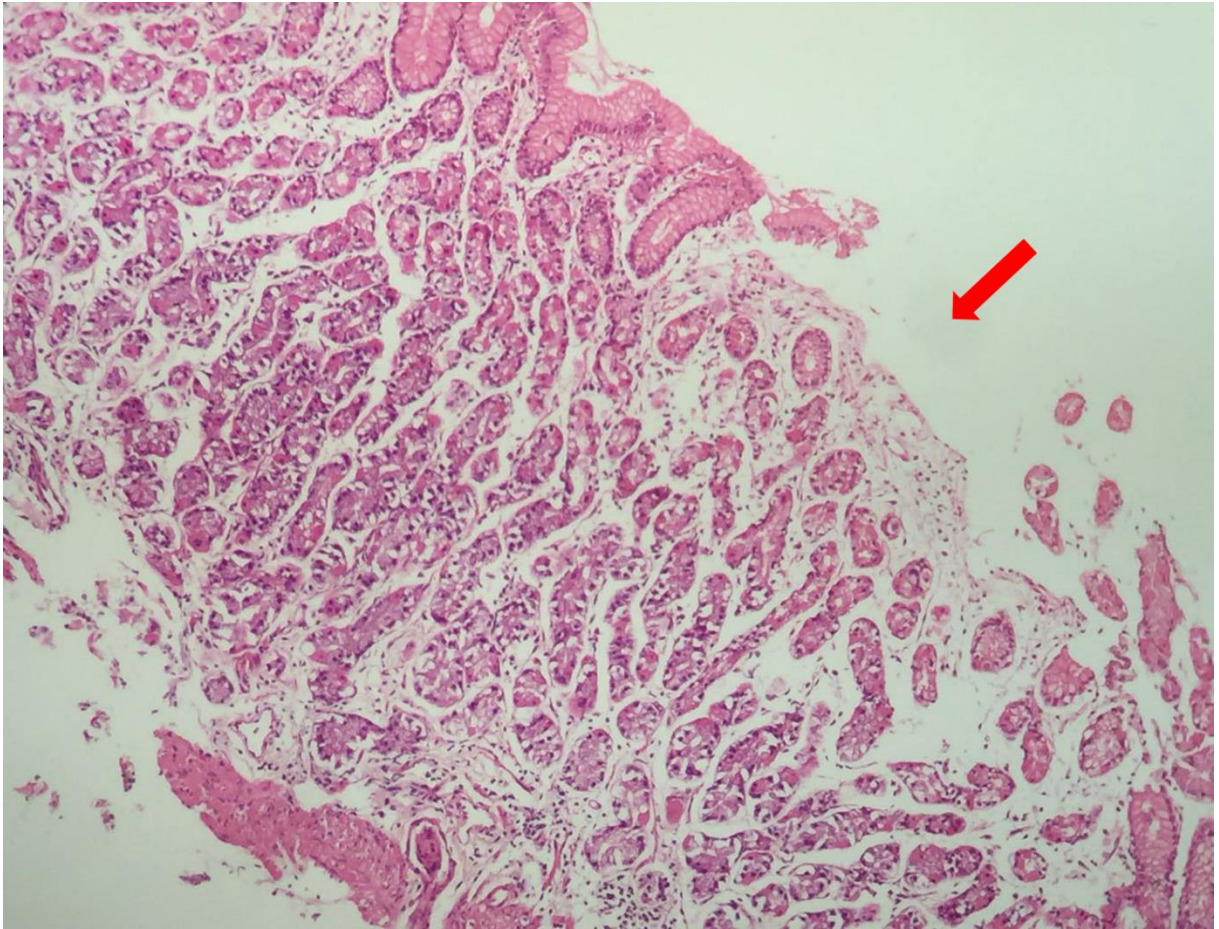


FIGURA 8 – Erosão: Perda de continuidade da camada epitelial (seta) e processo inflamatório crônico adjacente (HE 100x).



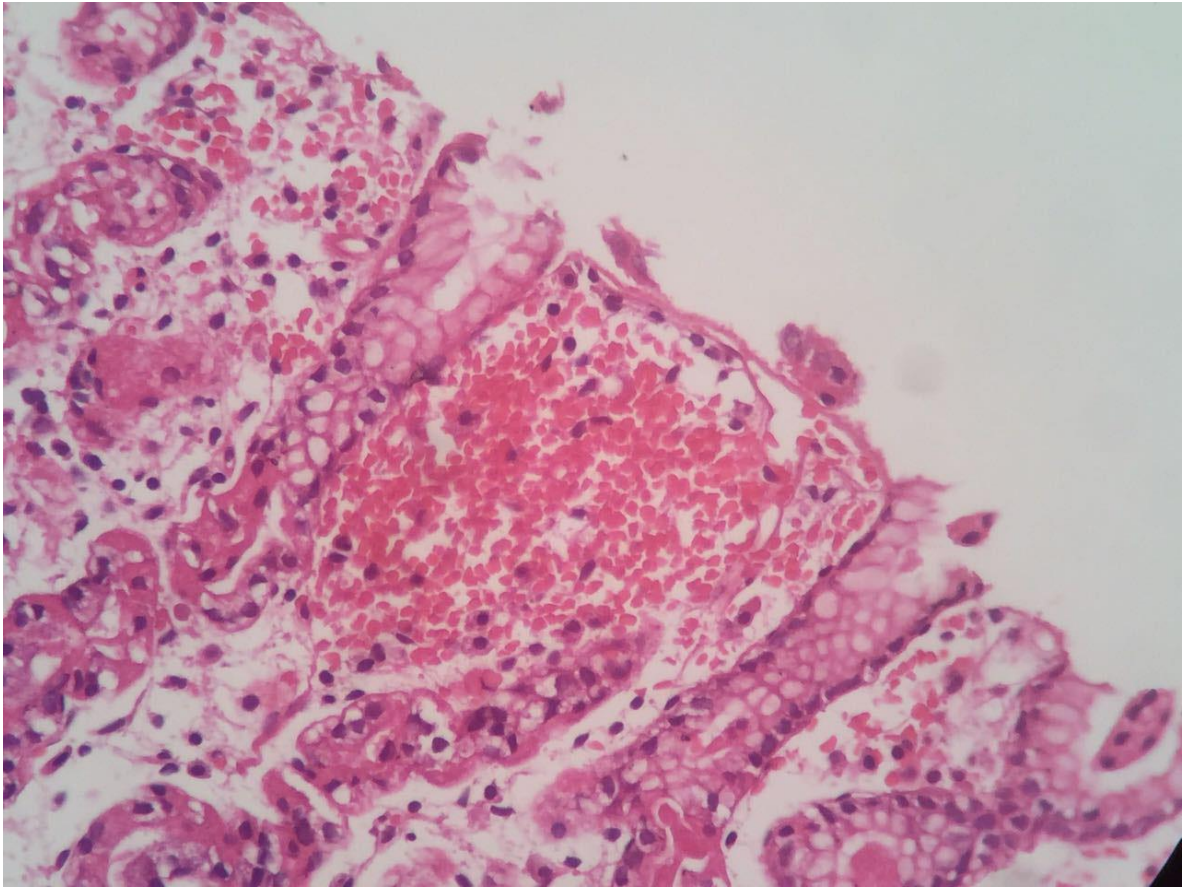


FIGURA 9 – Foco hemorrágico na lâmina própria superficial (HE 400x).

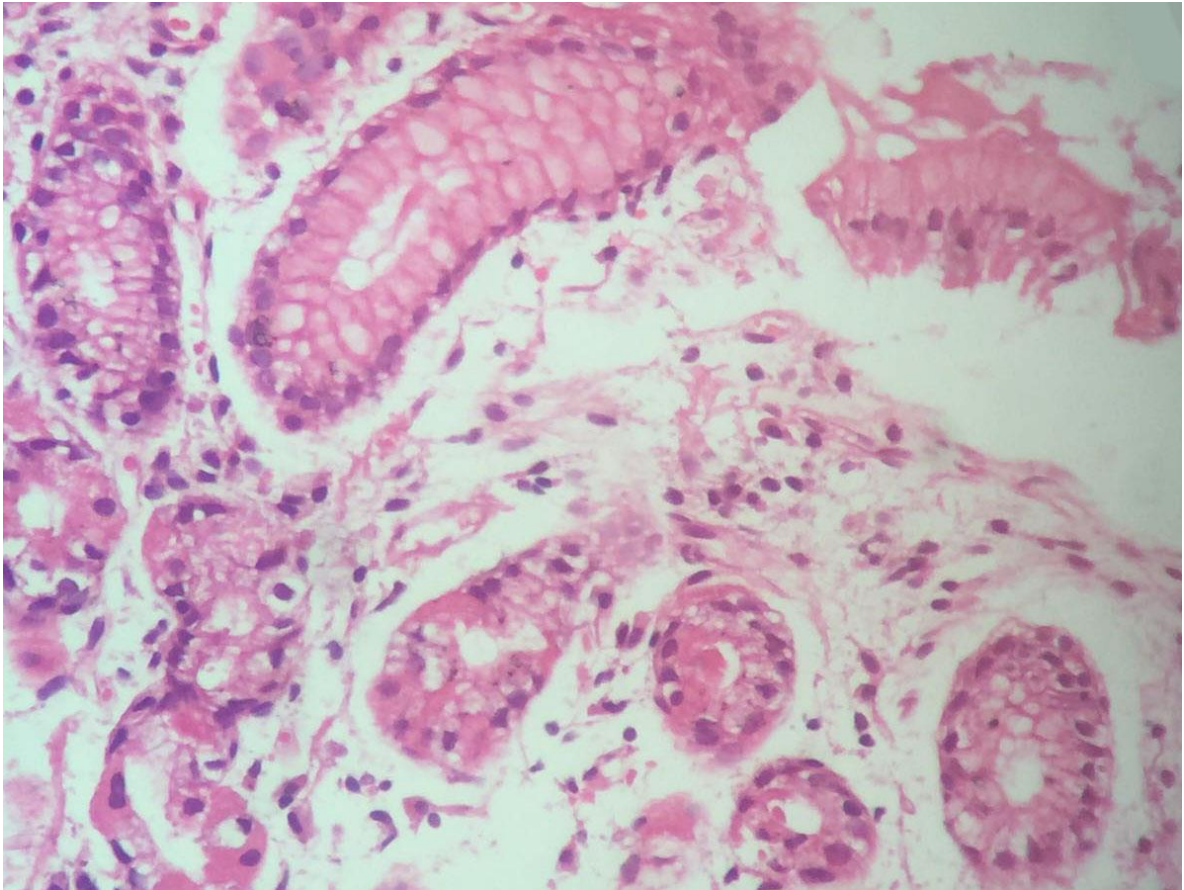


FIGURA 10 – Espaços claros na lâmina própria com diminuição das glândulas indicando edema (HE 400x).

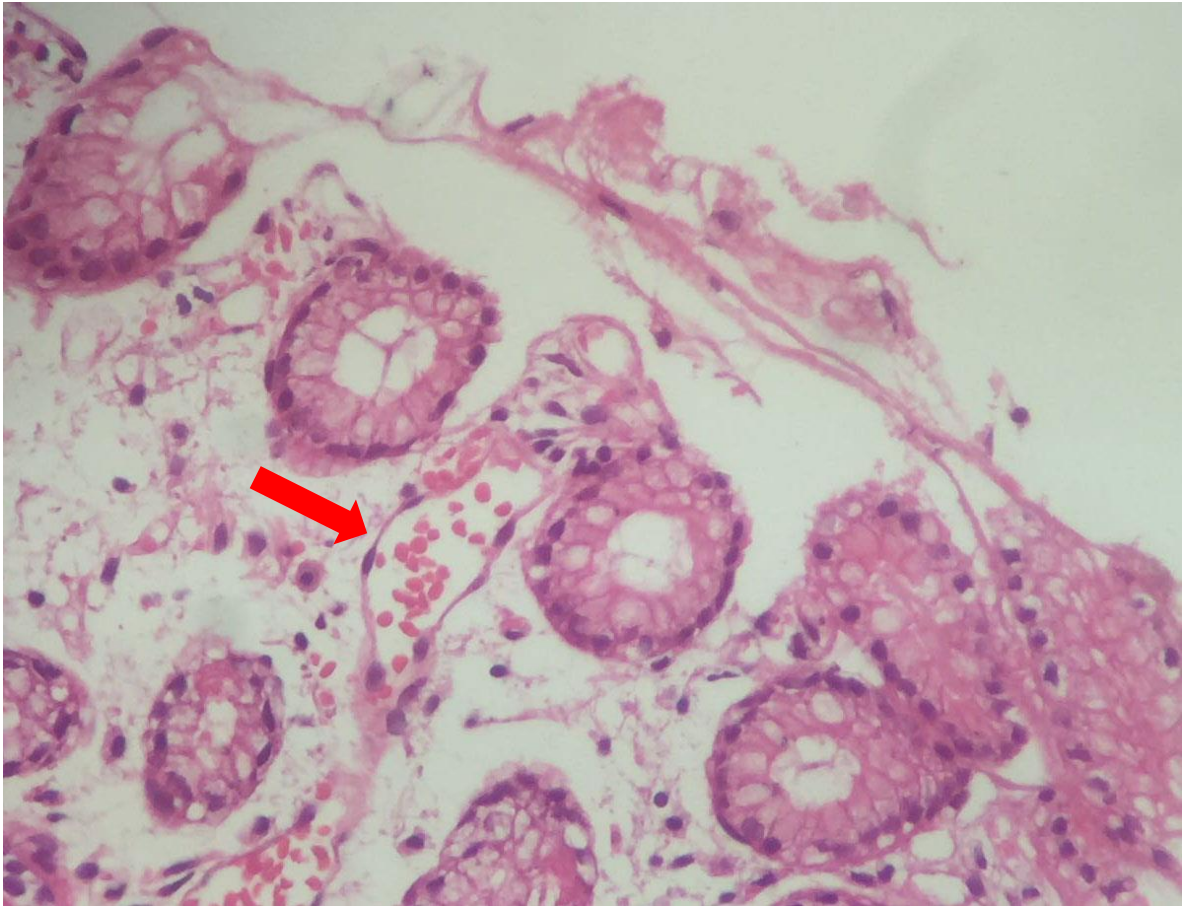


FIGURA 11 – Edema submucoso e congestão vascular. Observar o capilar ectasiado e repleto de hemácias (seta) (HE 400x).

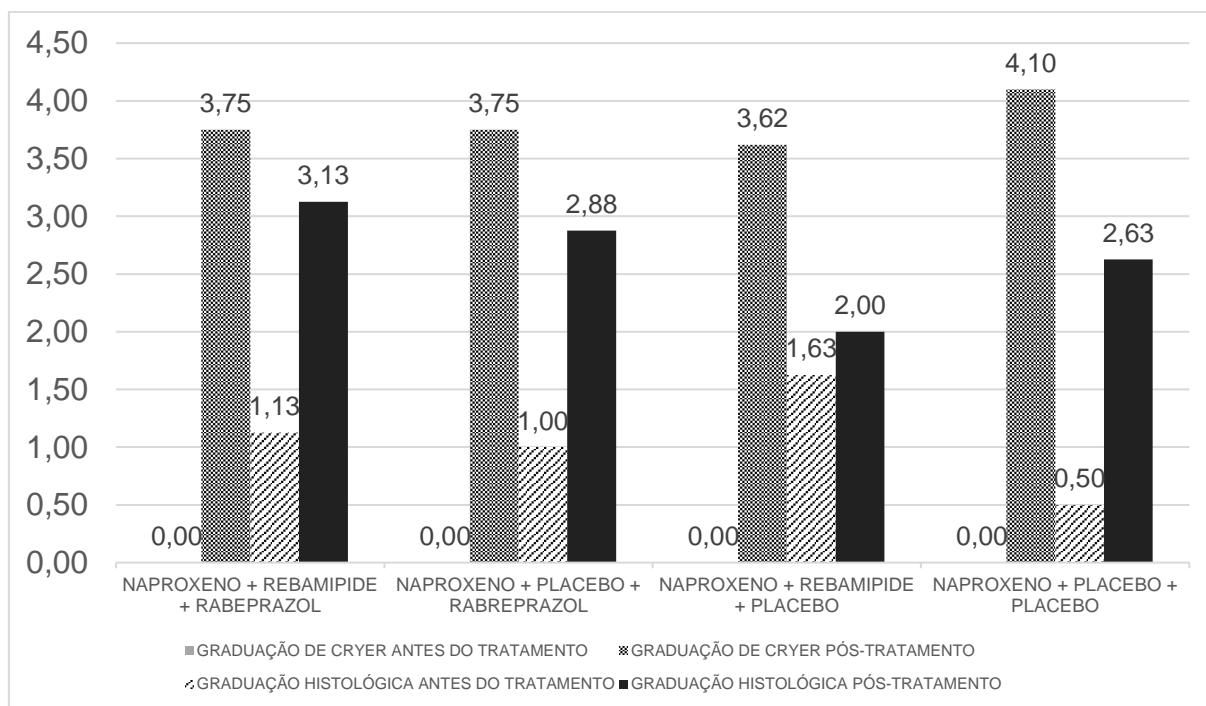


FIGURA 12 – Distribuição dos scores de Cryer e histopatológicos nos grupos experimentais.

Se observarmos os scores descritos nas TABELAS 5, 6, 7 e 8, poderemos notar, no momento pré-tratamento, graus variados de inflamação. Contudo, estas alterações microscópicas, devido a sua baixa intensidade, não refletiram em alterações macroscópicas em nenhum dos casos.

Eventos adversos foram observados em 7 pacientes, porém, após avaliação clínica, nenhum dos casos necessitou de interrupção do tratamento (TABELA 9).

	Dia	1	2	3	4	5	6	7
	Vol.							
Grupo A Naproxeno + Rebamipide +Rabeprazol	1							Desconforto abdominal
	2							
	3							
	4				Má-digestão			
	5							
	6	Náusea						
	7							
	8							
Group B Naproxeno + Placebo + Rabeprazol	9							
	10							
	11							
	12							
	13							
	14							
	15							
	16							
Grupo C Naproxeno + Rebamipide + Placebo	17							
	18							
	19	Edema de pálpebra / Taquicardia						
	20							
	21		Diarreia	Dor epigástrica		Diarreia / Desconforto abdominal		
	22							
	23							
	24							
Grupo D Naproxeno + Placebo + Placebo	25							
	26			Edema de pálpebra				
	27							
	28							
	29							
	30							
	31							
	32	Dor epigástrica		Náusea		Náusea / Dor epigástrica / Queimação / Cefaleia	Náusea	

TABELA 9 – Distribuição dos eventos adversos em relação ao dia do tratamento e grupos experimentais.

## 5 DISCUSSÃO

Naproxeno é um dos AINES mais prescritos, sendo considerado de risco relativo mediano ao sistema gastrointestinal<sup>40</sup>. A associação entre os AINES e o desenvolvimento de lesões gastrointestinais é bem estabelecida<sup>16</sup>, podendo causar diferentes graus de inflamação, incluindo a presença de sangramentos e úlceras<sup>41</sup>. Um estudo com meta-análise de 28 ensaios clínicos demonstrou uma correlação positiva entre doses altas (acima de 1200 mg) de naproxeno e risco relativo para complicações gastrointestinais superiores<sup>40</sup>.

Diversas publicações descreveram o rebamipide como droga com boa eficácia gastroprotetora para gastrite medicamentosa induzida por anti-inflamatórios<sup>26,27,42-44</sup> (TABELA 10). Entretanto, em 2016 nosso grupo investigou o efeito protetor do rebamipide em voluntários saudáveis tratados com naproxeno, mas não foi capaz de observar qualquer benefício. Este resultado foi diferente do restante da literatura e poderia se explicado por diferenças específicas de pH, doses administradas de rebamipide, hábitos alimentares e genéticas nas populações estudadas<sup>29</sup>.

ESTUDO	ANO	PAÍS	N	VOLUNTÁRIO SÁDIOS	AINES	DISSECÇÃO SUBMUCOSA	PLACEBO	<i>H.</i> <i>PYLORI</i>	AGENTE GASTROPROTETOR	PROTEÇÃO	REPARAÇÃO
Jaworski et al. <sup>19</sup>	2005	EUA	21	Sim	Naproxeno	-----	Sim	-	RABEPRAZOL	Sim	-----
Kim et al. <sup>42</sup>	2007	Korea	20	Sim	Ibuprofeno	-----	Sim	n.a.	REBAMIPIDE	Sim	-----
Park et al. <sup>43</sup>	2007	Korea, China, Tailândia	379	Não	Diversos	-----	Não	n.a.	REBAMIPIDE	Sim	-----
Naito et al. <sup>44</sup>	2008	Japão	24	Sim	Indometacina	-----	Não	-	REBAMIPIDE	Sim	-----
Kaway et al. <sup>45</sup>	2009	Japão	19	Sim	Aspirina	-----	Sim	-	REBAMIPIDE	Sim	-----
Mizukami et al. <sup>46</sup>	2011	Japão	24	Sim	Aspirina	-----	Não	n.a.	REBAMIPIDE + OMEPRAZOL OMEPRAZOL	Sim Não	-----
Kim et al. <sup>26</sup>	2014	Korea	479	Não	Diversos	-----	Não	n.a.	REBAMIPIDE	Sim	-----
Bunoo et al. <sup>47</sup>	2013	Japão	78	Não	-----	Sim	Não	n.a.	ESOMEPRAZOL + REBAMIPIDE OMEPRAZOL + REBAMIPIDE	----- -----	Sim Sim
Watanabe et al. <sup>27</sup>	2015	Japão	38	Não	Aspirina	-----	Sim	n.a.	REBAMIPIDE	-----	Sim
Gagliano-Jucá et al. <sup>29</sup>	2016	Brasil	24	Sim	Naproxeno	-----	Sim	n.a.	REBAMIPIDE	Não	-----
Nakamura et al. <sup>48</sup>	2016	Japão	109	Não	-----	Sim	Não	n.a.	RABEPRAZOL RABEPRAZOL + REBAMIPIDE	----- -----	Sim Sim

TABELA 10 – Artigos que utilizaram métodos gastroprotetores contra o uso de AINES ou dissecção submucosa.

n.a. – não avaliado



Em 2017 uma meta-análise com 17 ensaios clínicos randomizados e 2170 sujeitos foi publicada. Neste estudo, o qual avaliou a melhora da dispepsia orgânica ou funcional, incluindo aquelas induzidas por AINES, obtiveram a melhora de 23% dos sintomas dispépticos com o uso do rebamipide. Entretanto, em sua discussão reforçaram a necessidade de considerar a população estudada. Quinze dos 17 estudos foram conduzidos em países asiáticos (Korea, Japão e China) e apenas dois no ocidente (Austrália e Brasil). Interessantemente, nos dois países ocidentais não houve demonstração dos sintomas gastrointestinais quando comparados ao placebo. De acordo com Jaafar e colaboradores, isto poderia ser justificado pela baixa correlação entre gastrite crônica e sintomas dispépticos nas populações eminentemente caucasianas<sup>28</sup>. Em outras palavras, indivíduos asiáticos com dispepsia poderiam ter alterações mais severas histológicas quando comparados aos europeus, possuindo grande potencial de correção das alterações com o uso do medicamento.

Analizando outras formas de gastroproteção, no passado nós pudemos encontrar diversos estudos que tentaram encontrar um método protetor eficaz. O uso dos IBP demonstrou ser seguro e eficiente<sup>30</sup>. O rabeprazol poderia aumentar a produção de muco e mucina em voluntários assintomáticos tratados com naproxeno<sup>19</sup>. Neste sentido, seu uso é indicado em protocolos protetores gastrointestinais quando o uso dos AINES é necessário<sup>30</sup>. Portanto, como nosso grupo não foi capaz de verificar o efeito gastroprotetor do rebamipide isolado, tentamos a associação com o rabeprazol sem sucesso também.

Apesar dos estudos prévios terem avaliados efeitos do rebamipide associado a um IBP em lesões mecanicamente induzidas<sup>35,49</sup> e em gastrites medicamentosas por AINES<sup>46-48</sup>, nosso estudo foi o primeiro a avaliar esta associação para lesões gastrointestinais induzidas por AINES.

Uma das possíveis fragilidades dos estudos com medicamentos é a aderência. Para garanti-la durante todo o período do estudo, os pacientes foram instruídos a comparecer na clínica em todos os momentos de administração da medicação, garantindo seu uso correto. Além disso, todos os voluntários, assim como os profissionais envolvidos no estudo permaneceram cegos durante todo o período. Contudo, nosso número amostral é pequeno e poderia refletir outra realidade se aumentado.



## 6 CONCLUSÃO

A associação de rabeprazol e rebamipide falhou na prevenção da ocorrência de lesões gástricas em voluntários sadios tratados com 1.100 mg diários de naproxeno por sete dias consecutivos.

## 7 REFERÊNCIAS

- 1 - Nahin RL. Estimates of pain prevalence and severity in adults: United States, 2012. *J Pain*. 2015 Aug;16(8):769-80.
- 2 - Leadley RM, Armstrong N, Lee YC, Allen A, Kleijnen J. Chronic diseases in the European Union: the prevalence and health cost implications of chronic pain. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. 2012;26(4):310–325.
- 3 - de Souza JB, Grossmann E, Perissinotti DMN, de Oliveira Junior JO, da Fonseca PRB, Posso IP. Prevalence of Chronic Pain, Treatments, Perception, and Interference on Life Activities: Brazilian Population-Based Survey. *Pain Res Manag*. 2017;2017:4643830.
- 4 - Brune K, Patrignani P. New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Pain Res*. 2015 Feb 20;8:105-18.
- 5 - Conaghan PG. A turbulent decade for NSAIDs: update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity. *Rheumatol Int*. 2012;32(6):1491–1502.
- 6 - Rao P, Knaus EE. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J Pharm Pharm Sci*. 2008 Sep 20;11(2):81s-110s.
- 7 - Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971;43:232-235.
- 8 - Vane JR. The mode of action of aspirin and similar compounds. *J Allergy Clin Immunol*, 1976;58:691-712.
- 9 - Vane J, Botting R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB J*. 1987 Aug;1(2):89-96.
- 10 - Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Dec 15;90(24):11693-7.
- 11 - Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med* 1998;104(Suppl 3A):2S–8S.
- 12 - Vane JR. The fight against rheumatism: from willow bark to COX-1 sparing drugs. *J Physiol Pharmacol* 2000;51:573–586.

- 13 - Fosslien E. Adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the gastrointestinal system. *Ann Clin Lab Sci.* 1998 Mar-Apr;28(2):67-81.
- 14 - Leone S, Ottani A, Bertolini A. Dual acting anti-inflammatory drugs. *Curr Top Med Chem.* 2007;7(3):265-75.
- 15 - Lai Y, Zhong W, Yu T, Xia ZS, Li JY, Ouyang H, Shan TD, Yang HS, Chen QK. Rebamipide Promotes the Regeneration of Aspirin-Induced Small-Intestine Mucosal Injury through Accumulation of  $\beta$ -Catenin. *PLoS One.* 2015 Jul 2;10(7):e0132031.
- 16 - Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ; VIGOR Study Group. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med.* 2000 Nov 23;343(21):1520-8.
- 17 - Ito Y, Sasaki M, Funaki Y, Ogasawara N, Mizuno M, Iida A, Izawa S, Masui R, Kondo Y, Tamura Y, Yanamoto K, Noda H, Tanabe A, Okaniwa N, Yamaguchi Y, Kasugai K. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced visible and invisible small intestinal injury. *J Clin Biochem Nutr.* 2013 Jul;53(1):55-9.
- 18 - Rogers MA, Aronoff DM. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Feb;22(2):178.e1-9.
- 19 - Jaworski T, Sarosiek I, Sostarich S, Roeser K, Connor M, Brotze S, Wallner G, Sarosiek J. Restorative impact of rabeprazole on gastric mucus and mucin production impairment during naproxen administration: its potential clinical significance. *Dig Dis Sci.* 2005 Feb;50(2):357-65.
- 20 - Yandrapu H, Sarosiek J. Protective Factors of the Gastric and Duodenal Mucosa: An Overview. *Curr Gastroenterol Rep.* 2015 Jun;17(6):24.
- 21 - Watanabe T, Tanigawa T, Nadatani Y, et al. Mitochondrial disorders in NSAIDs-induced small bowel injury. *J Clin Biochem Nutr* 2011; 48: 117–121.
- 22 - Mazumder S, De R, Sarkar S, Siddiqui AA, Saha SJ, Banerjee C, Iqbal MS, Nag S, Debsharma S, Bandyopadhyay U. Selective scavenging of intra-mitochondrial superoxide corrects diclofenac-induced mitochondrial dysfunction and gastric injury: A novel gastroprotective mechanism independent of gastric acid suppression. *Biochem Pharmacol.* 2016 Dec 1;121:33-51.

- 23 - Bjarnason I. Intestinal permeability. *Gut* 1994; 35: S18–S22.
- 24 - Arakawa T, Higuchi K, Fujiwara Y, Watanabe T, Tominaga K, Sasaki E, Oshitani N, Yoshikawa T, Tarnawski AS. 15th anniversary of rebamipide: looking ahead to the new mechanisms and new applications. *Dig Dis Sci*. 2005 Oct;50 Suppl 1:S3-S11.
- 25 - Arakawa T, Kobayashi K, Yoshikawa T, Tarnawski A. Rebamipide: overview of its mechanisms of action and efficacy in mucosal protection and ulcer healing. *Dig Dis Sci*. 1998 Sep;43(9 Suppl):5S-13S.
- 26 - Kim JH, Park SH, Cho CS, Lee ST, Yoo WH, Kim SK, Kang YM, Rew JS, Park YW, Lee SK, Lee YC, Park W, Lee DH. Preventive efficacy and safety of rebamipide in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced mucosal toxicity. *Gut Liver*. 2014 Jul;8(4):371-9.
- 27 - Watanabe T, Takeuchi T, Handa O, Sakata Y, Tanigawa T, Shiba M, Naito Y, Higuchi K, Fujimoto K, Yoshikawa T, Arakawa T. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of high-dose rebamipide treatment for low-dose aspirin-induced moderate-to-severe small intestinal damage. *PLoS One*. 2015 Apr 15;10(4):e0122330.
- 28 - Jaafar MH, Safi SZ, Tan MP, Rampal S, Mahadeva S. Efficacy of Rebamipide in Organic and Functional Dyspepsia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci*. 2018 May;63(5):1250-1260.
- 29 - Gagliano-Jucá T, Moreno RA, Zaminelli T, Napolitano M, Magalhães AF, Carvalhaes A, Trevisan MS, Wallace JL, De Nucci G. Rebamipide does not protect against naproxen-induced gastric damage: a randomized double-blind controlled trial. *BMC Gastroenterol*. 2016 Jun 4;16(1):58.
- 30 - Gargallo CJ, Sostres C, Lanas A. Prevention and Treatment of NSAID Gastropathy. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2014 Dec;12(4):398-413.
- 31 – Porth CM, Matfin G. *Fisiopatologia*. 8<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.
- 32 - Medlock S, Eslami S, Askari M, Taherzadeh Z, Opondo D, de Rooij SE, Abu-Hanna A. Co-prescription of gastroprotective agents and their efficacy in elderly patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a systematic review of observational studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Oct;11(10):1259-1269.e10.
- 33 - de Groot NL, Spiegel BM, van Haalen HG, de Wit NJ, Siersema PD, van Oijen MG. Gastroprotective strategies in chronic NSAID users: a cost-effectiveness analysis comparing

single-tablet formulations with individual components. *Value Health*. 2013 Jul-Aug;16(5):769-77.

34 - Velasco-Zamora JA, Gómez-Reyes E, Uscanga L. Are the clinical guideline recommendations on gastroprotection being followed? A review in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Rev Gastroenterol Mex*. 2016 Jul-Sep;81(3):121-5.

35 - Wang J, Guo X, Ye C, Yu S, Zhang J, Song J, Cao Z, Wang J, Liu M, Dong W. Efficacy and safety of proton pump inhibitors (PPIs) plus rebamipide for endoscopic submucosal dissection-induced ulcers: a meta-analysis. *Intern Med*. 2014;53(12):1243-8.

36 - WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (2013). Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964; and amended by the: 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975; 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983; 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989; 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996; 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000; 53rd WMA General Assembly, Washington, DC, USA, October 2002 (Note of Clarification on paragraph 29 added); 55th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 2004 (Note of Clarification on Paragraph 30 added); 59th WMA General Assembly, Seoul, Republic of Korea, October 2008; 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013. <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>. Accessed 05 February 2017.

37 - Karch FE, Lasagna L. Toward the operational identification of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther*. 1977;21(3):247-54.

38 - Cryer B, Feldman M. Effects of very low dose daily, long-term aspirin therapy on gastric, duodenal, and rectal prostaglandin levels and on mucosal injury in healthy humans. *Gastroenterology*. 1999;117(1):17-25.

39 - Naito Y, Yoshikawa T, Iinuma S, Yagi N, Matsuyama K, Boku Y, et al. Rebamipide protects against indomethacin-induced gastric mucosal injury in healthy volunteers in a double-blind, placebo-controlled study. *Dig Dis Sci*. 1998;43(9 Suppl):83S-9S.

40 - Castellsague J, Riera-Guardia N, Calingaert B, Varas-Lorenzo C, Fourier-Reglat A, Nicotra F, Sturkenboom M, Perez-Gutthann S; Safety of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (SOS) Project. Individual NSAIDs and upper gastrointestinal complications: a

systematic review and meta-analysis of observational studies (the SOS project). *Drug Saf.* 2012 Dec 1;35(12):1127-46.

41 - Marlicz W, Loniewski I, Grimes DS, Quigley EM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, proton pump inhibitors, and gastrointestinal injury: contrasting interactions in the stomach and small intestine. *Mayo Clin Proc.* 2014; 89(12):1699–1709.

42 - Kim HK, Kim JI, Kim JK, Han JY, Park SH, Choi KY, Chung IS. Preventive effects of rebamipide on NSAID-induced gastric mucosal injury and reduction of gastric mucosal blood flow in healthy volunteers. *Dig Dis Sci.* 2007 Aug;52(8):1776-82.

43 - Park SH, Cho CS, Lee OY, Jun JB, Lin SR, Zhou LY, Yuan YZ, Li ZS, Hou XH, Zhao HC, Kachintorn U, Kositchaiwat C, Lertkupinit C. Comparison of Prevention of NSAID-Induced Gastrointestinal Complications by Rebamipide and Misoprostol: A Randomized, Multicenter, Controlled Trial-STORM STUDY. *J Clin Biochem Nutr.* 2007 Mar;40(2):148-55.

44 - Naito Y, Iinuma S, Yagi N, Boku Y, Imamoto E, Takagi T, Handa O, Kokura S, Yoshikawa T. Prevention of Indomethacin-Induced Gastric Mucosal Injury in Helicobacter pylori-Negative Healthy Volunteers: A Comparison Study Rebamipide vs Famotidine. *J Clin Biochem Nutr.* 2008 Jul;43(1):34-40.

45 - Kawai T, Yamagishi T, Goto S. Circadian variations of gastrointestinal mucosal damage detected with transnasal endoscopy in apparently healthy subjects treated with low-dose aspirin (ASA) for a short period. *J Atheroscler Thromb.* 2009;16:155–163.

46 - Mizukami K, Murakami K, Abe T, Inoue K, Uchida M, Okimoto T, Kodama M, Fujioka T. Aspirin-induced small bowel injuries and the preventive effect of rebamipide. *World J Gastroenterol.* 2011 Dec 14;17(46):5117-22.

47 - Bunno M, Gouda K, Yamahara K, Kawaguchi M. A Case-Control Study of Esomeprazole Plus Rebamipide vs. Omeprazole Plus Rebamipide on Post-ESD Gastric Ulcers. *Jpn Clin Med.* 2013 Mar 6;4:7-13.

48 - Nakamura K, Ihara E, Akiho H, Akahoshi K, Harada N, Ochiai T, Nakamura N, Ogino H, Iwasa T, Aso A, Iboshi Y, Takayanagi R. Limited Effect of Rebamipide in Addition to Proton Pump Inhibitor (PPI) in the Treatment of Post-Endoscopic Submucosal Dissection Gastric Ulcers: A Randomized Controlled Trial Comparing PPI Plus Rebamipide Combination Therapy with PPI Monotherapy. *Gut Liver.* 2016 Nov 15;10(6):917-924.

49 - Nishizawa T, Suzuki H, Kanai T, Yahagi N. Proton pump inhibitor alone vs proton pump inhibitor plus mucosal protective agents for endoscopic submucosal dissection-induced ulcer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Biochem Nutr.* 2015 Mar;56(2):85-90.

## 8 APÊNDICES

Artigo Submetido ao Periódico BMC Gastroenterology em 27 de novembro de 2018.

### **Rebamipide with or without rabeprazole failed on the prevention of induced gastritis: a randomized controlled study**

Victor Perez Teixeira MPhil

Department of Pharmacology, State University of Campinas, Campinas, Brazil

Department of Pharmacology, Metropolitan University of Santos, Santos, Brazil

Department of Pathology, Metropolitan University of Santos, Santos, Brazil

teixeira.victorp@gmail.com

Angelo Sementilli MD, PhD

Department of Pathology, Metropolitan University of Santos, Santos, Brazil

sementilli@terra.com.br

Ronilson Agnaldo Moreno PhD

Department of Pharmacology, State University of Campinas, Campinas, Brazil

ronilson.online@gmail.com

Gustavo Duarte Mendes PhD

Department of Pharmacology, Metropolitan University of Santos, Santos, Brazil

Department of Pharmacology, Brazil University, Fernandópolis, Brazil

mendesgd@yahoo.com.br

Gilberto De Nucci MD, PhD

Department of Pharmacology, State University of Campinas, Campinas, Brazil

Department of Pharmacology, Metropolitan University of Santos, Santos, Brazil

Department of Pharmacology, Brazil University, Fernandópolis, Brazil

Department of Pharmacology, Faculty Medicine, São Leopoldo Mandic, Campinas, Brazil

denucci@gilbertodenucci.com



## ABSTRACT

**Background:** Naproxen and other non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs induce gastrointestinal (GI) adverse events ranging from dyspepsia to upper and lower GI tract ulcers. Rebamipide has been described as a GI mucosal protector agent with promising results in prophylaxis and treatment of GI ulcers caused by NSAIDS or H. pylori. The objective of this trial was to evaluate the effect of rebamipide in the naproxen-induced gastric damage in healthy volunteers treated also with the proton pump inhibitor rabeprazole.

**Methods:** After a preliminary endoscopy to rule out previous gastric macroscopic damage, 32 healthy volunteers of both sexes were divided into 4 groups. All groups received 550 mg of Naproxen tablet twice a day. Groups A and B received 20 mg of rabeprazole tablet once a day, while C and D received placebo tablets. Groups A and C received 300 mg of effervescent rebamipide twice a day, while groups B and D received effervescent placebo. All treatments were performed in 7 consecutive days. The volunteers were randomized using 4 blocks of 8 subjects each. At the end of treatment, a new endoscopy was performed. Gastric macroscopic damage was evaluated by the Cryer score. Biopsies were collected at both endoscopies for histopathological analysis.

**Results:** The Cryer's score of all subjects before the treatments was zero, notwithstanding, after the use of naproxen, the scores were higher than 3, independently of the experimental group. The worst results were obtained on group D, which used naproxen and placebos of the other drugs. Three patients were classified at the maximum grade, with presence of multiples ulcers and sub mucosal hemorrhage or edema. The median score of Cryer was 3.75 (3 – 4) in group A, 3.75 (3 – 4) in group B, group C 3.625 (3 – 4) and 4.125 (3 – 5) in group D. There was no statistically

significant ( $p= 0.3748$ ) difference when the use of rebamipide or/and rabeprazole was compared with the isolated use of naproxen in the prevention of gastrointestinal mucosal lesions.

**Conclusions:** The association of rabeprazole with rebamipide was not able to prevent the occurrence of gastric lesions in healthy volunteers treated with 1100 mg daily of naproxen for seven consecutive days.

**Trial registration:** ClinicalTrials.gov, NCT03658473. Registered 05 September 2018

**Key words:** Anti-Inflammatory Agents, Healthy Volunteers, Clinical Study, Cyclooxygenase 1, Gastritis

## INTRODUCTION

Naproxen and other non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDS) induce gastrointestinal (GI) adverse events ranging from dyspepsia to upper and lower GI tract ulcers [1]. Rebamipide has been described as a GI mucosal protector agent with promising results in prophylaxis and treatment of GI ulcers caused by NSAIDS or *H. pylori* [2-6]. However, in a clinical trial performed in healthy volunteers (n=24) who were treated with naproxen (50 mg b.i.d.) and half of them treated with rebamipide (100 mg b.i.d) and the other half with placebo, rebamipide did not protect naproxen-induced gastric damage as assessed by endoscopy [7]. One possible explanation for this discrepancy was that most of the studies related to the protective effect of rebamipide were performed in Japanese or Korean subjects, whereas the study we have performed was conducted in western volunteers. Higher gastric pH is known to be a protective factor in NSAID-induced gastric damage and the incidence of hypochlorhydria in the Japanese population is higher than in western countries [6]. The objective of this trial was to evaluate the effect of rebamipide in the naproxen-induced gastric damage in healthy volunteers treated also with the proton pump inhibitor rabeprazole.

## MATERIAL AND METHODS

### Study Design

This was a randomized double-blind placebo-controlled. The study protocol was approved by the committee of Research Ethics of the University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil (nº 1.006.342), and registered on ClinicalTrials.gov (NCT03658473)

### Volunteers

After performing a preliminary gastroduodenal endoscopy at the Vera Cruz Hospital (Campinas, Brazil) to rule-out prior macroscopic upper GI damage in subjects, thirty-two healthy volunteers (n=32) were enrolled in the study. Other exclusion criteria were: achlorhydria (pH>6.5); positive fecal occult blood.

Volunteers of both sexes aged 18 years old or older without any significant cardiac, hepatic, renal, pulmonary, neurological, gastrointestinal or hematological diseases, as determined by their medical history, physical examination, and routine laboratory tests (hematology, blood biochemistry, urine analysis and fecal occult blood test), were invited to participate in this double-blind, randomized, parallel placebo-controlled single center trial. All subjects tested negative for hepatitis B and C (except for serologic scar), as well as HIV I and II, and were instructed to abstain from taking any medication including over-the-counter medication for 2 weeks prior to and during the study period. Pregnancy was an exclusion criterion. All women enrolled had negative  $\beta$ -HCG. All volunteers were informed about the aim and risks of the study by the clinical investigator and they all signed a written informed consent statement before entering the study. The studies were conducted in accordance with the provisions of the Declaration of Helsinki and its revisions<sup>Erro! Fonte de referência não encontrada.</sup>. The volunteers were paid for participation in the clinical study.

### **Treatment**

Volunteers were randomly divided into 4 treatment groups (**TABLE 1**). All groups received 550 mg of Naproxen tablet (Flanax® – Roche) twice a day. Groups A and B received 20 mg of rabeprazole tablet (Biolab Sanus Farmacêutica Ltda.) once a day, while C and D received placebo tablets. Groups A and C received 300 mg of effervescent rebamipide (Biolab Sanus Farmacêutica Ltda.) twice a day, while groups B and C received effervescent placebo. All treatments were performed in 7 consecutive

days. The volunteers were randomized using 4 blocks of 8 subjects each. Volunteers were blinded about their treatment. To assure adherence, the drugs were administered by a member of the research team (also blind to treatment allocation) in the morning (7 to 8 a.m.) and in the evening (7 to 8 p.m.) for the whole duration of the study. A pharmacist was responsible for labeling treatments as A, B, C or D, and for breaking the code at the end of the study. Volunteers were required to be fasted in the morning and were only allowed to eat at least 2 h after administration of medications. In the evening, volunteers were required to be at least for 2 h without ingestion of food and were also asked to avoid eating for the following 2 h after the dose. Adverse reactions were individually evaluated. Causality relationship to the treatment was assessed with the aid of the Karch & Lasagna algorithm [8]. The necessity of interruption of treatment or specific therapy was individually assessed by the Principal Investigator depending on the severity of the reaction and the causality relationship to the treatment.

GROUP	NSAID	Gastroprotective agent	
A	Naproxen 550 mg	Rebamipide 300 mg	Rabeprazole 20 mg
B	Naproxen 550 mg	Placebo	Rabeprazole 20 mg
C	Naproxen 550 mg	Rebamipide 300 mg	Placebo
D	Naproxen 550 mg	Placebo	Placebo

TABLE 1 – Division of experimental groups.

### Gastrointestinal damage evaluation

Gastroduodenal endoscopy was performed before the start of the study and in the morning of the 8th day of treatment in all volunteers. All the exams were performed by the same specialist who was also blind to treatment allocation. The primary outcome measure of the trial was the macroscopic damage observed at the end of treatment. The number of mucosal erosions after treatment was counted and macroscopic mucosal injury scored according to Cryer (**TABLE 2**) [9].

Score	Gastroduodenal mucosa changes
0	Normal or eritema
1	Any amount of submucosal hemorrhage or edema without erosions
2	1 erosion $\pm$ submucosal hemorrhage or edema
3	2-4 erosions $\pm$ submucosal hemorrhage or edema
4	> 5 erosions and / or single ulcer $\pm$ submucosal hemorrhage or edema
5	Multiple ulcers $\pm$ submucosal hemorrhage or edema

TABLE 2 – Cryer classification for macroscopic lesions of the stomach mucosa.

Additionally, a second endoscopist retrospectively evaluated the exams, blind to the scores given by the first endoscopist. If there was any difference between the score given by the two endoscopists, the final score would be the mean value of the two numbers. Both endoscopists were blind to treatment group allocation of volunteers. In each exam 2 biopsies were collected from the gastric antrum and 2 from the gastric corpus for histological analysis.

### **Histopathological evaluation**

Biopsies from gastric antrum and corpus were immediately put in formaldehyde after collection. Samples were stained in hematoxylin and eosin for characterization and

graded according to an inflammatory score described in **TABLE 3**. The pathologist was also blind to treatments.

Score	Microscopic findings
0	Normal gastric mucosa or mild chronic inflammation
1	Chronic gastritis without activity
2	Chronic gastritis with low activity
3	Chronic gastritis with median activity
4	Chronic gastritis with high activity

TABLE 3 – Inflammatory scores attributed to microscopic findings.

### Statistical analysis

Endoscopic and histopathological scores between treatment groups were compared using the One-way Analysis of Variance (ANOVA) and the analysis of the pre and post treatment moments was by Paired t test, both with the software GraphPad InStat version 3.06. A p value <0.05 was considered significant. The sample size planned for the study was 32 volunteers of both sexes. This number was chosen based on the gastroprotective effects of rebamipide previously reported [10].

## RESULTS

All 32 volunteers enrolled completed all procedures of the study (19 men). The mean age of men was 29.1 years (range 20 – 55 years), mean weight was 76.9 kg (57 – 93.03 kg), mean height was 176 cm (167 – 188 cm), and mean body mass index was 24.82 kg/m<sup>2</sup> (20.44 – 28.73 kg/m<sup>2</sup>). Women had a median age of 33.9 years (range 22 – 53 years), mean weight was 61.65 kg (52 – 73 kg), mean height was 163 cm (152 – 171 cm), and mean body mass index was 23.17 kg/m<sup>2</sup> (19.81 – 27.10 kg/m<sup>2</sup>).

The Cryer's score of all subjects before the treatments was zero, notwithstanding, after the use of naproxen, the scores were higher than 3, independently of the experimental group. The worst results were obtained on group D, which used naproxen and placebos of the other drugs. Three patients were classified at the maximum grade, with presence of multiples ulcers and sub mucosal hemorrhage or edema (**FIGURES 1**). The median score of Cryer was 3.75 (3 – 4) in group A, 3.75 (3 – 4) in group B, group C 3.625 (3 – 4) and 4.125 (3 – 5) in group D (**TABLE 4**).

Experimental Groups	Volunteers	Before treatment		Post treatment	
		Cryer Score (0-5)	Histopathological Score (0-4)	Cryer Score (0-5)	Histopathological Score (0-4)
<b>A</b> Naproxen + Rebamipide + Rabeprazole	1	0	3	4	4
	2	0	0	4	0
	3	0	3	4	4
	4	0	0	4	4
	5	0	0	3	2
	6	0	3	3	3
	7	0	0	4	4
	8	0	0	4	4
	MEAN	0	1.125	3.75	3.125
<b>B</b> Naproxen + Placebo + Rabeprazole	9	0	0	4	4
	10	0	0	3	3
	11	0	3	4	3
	12	0	1	4	3
	13	0	0	4	2
	14	0	2	4	3
	15	0	2	3	4
	16	0	0	4	1
	MEAN	0	1	3.75	2.875
<b>C</b> Naproxen +	17	0	2	3	3
	18	0	0	4	0
	19	0	2	3	1
	20	0	0	4	0



Rebamipide + Placebo	21	0	1	3	1
	22	0	0	4	4
	23	0	4	4	4
	24	0	4	4	3
	MEAN	0	1.625	3.62	2
<b>D</b> Naproxen + Placebo + Placebo	25	0	0	4	4
	26	0	0	3	0
	27	0	1	5	4
	28	0	1	5	1
	29	0	0	3	4
	30	0	0	4	0
	31	0	1	4	4
	32	0	1	5	4
	MEAN	0	0,5	4.1	2.625

TABLE 4 – Distribution of Cryer and histopathology scores in the various experimental groups.

There was no statistically significant ( $p= 0.3748$ ) difference when the use of rebamipide or/and rabeprazole was compared with the isolated use of naproxen in the prevention of gastrointestinal mucosal lesions.

Regarding the histological analysis of the fragments removed in endoscopies prior to the experiment, it was possible to observe inflammatory lesions of the most varied degrees, however, after the anti-inflammatory treatment, there was worsening of the microscopic picture in all the experimental groups. Histological changes ranged from erosions (**FIGURE 2**), submucosal hemorrhage (**FIGURE 3**), edema (**FIGURE 4**) and capillary congestion (**FIGURE 5**).

When assigned the scores described in TABLE 4, we can observe, at the moment before treatment, varying degrees of inflammation, However, this microscopic alteration, due to its light intensity, did not, in none of the cases, in macroscopic alterations.

## DISCUSSION

Naproxen is one of the most prescribed NSAIDs and is considered of medium relative risk to gastrointestinal system [11]. The association between NSAIDs and gastrointestinal lesions development is well established [12], causing different grades of inflammation, including presence of bleeding and ulcers [13]. A meta-analysis including 28 clinical trials showed a positive correlation between increasing doses (up to 1200 mg) of naproxen and relative risk for upper gastrointestinal complications [11].

Several publications report rebamipide as a drug with good gastro-protective efficacy for NSAIDs induced gastritis [3,5,14-16]. However, in 2016 our group investigated the protective effect of rebamipide in healthy volunteers using naproxen but found no beneficial effect. This result was different of the rest of literature, and could be possible explained by specific pH differences, rebamipide dose administered, genetics and dietary habits in populations [7].

In 2017 a meta-analysis was published comprising 17 randomized clinical trials and 2170 subjects. In this study, which evaluated the improvement of functional or organic dyspepsia, including those induced by NSAIDs, obtained a 23% improvement in dyspeptic symptoms with the use of rebamipide. However, in their discussion they reinforce the need to consider the studied population. 15 of the 17 studies were conducted in Asian countries (Korea, Japan and China) and only 2 in the west (one in Australia and the other in Brazil) Interestingly, the two Westerners did not improve gastrointestinal symptoms when compared to placebo. According to Jaafar et al. this could be justified by a lower correlation between chronic gastritis and dyspeptic symptoms in eminently Caucasian populations [6]. In other words, Asian patients with dyspepsia would have more severe histological changes when compared to Europeans, presenting greater potentially correctable changes with the medication.

Analyzing other forms of gastroprotection, in the past we can find many studies that tried to find a protective method. The use of proton pump inhibitors showed up secure and efficient [17]. The rabeprazole could increase the mucous and mucin production in asymptomatic volunteers treated with naproxen [18]. In this sense, its use was indicated in gastrointestinal protective protocols when the use of NSAIDs is necessary [17]. Thus, as our group was not able to establish the gastroprotective effect of rebamipide alone [7], we tried to associate it with rabeprazole to see if there was any gain.

Thus, although the literature demonstrates that rabeprazole alone can protect the gastric mucosa in the use of naproxen [18], our study did not achieve this gain. Thus, introduction of the pump inhibitor did not decrease the changes caused by the anti-inflammatory.

Although previous studies have evaluated the effects of rebamipide associated to a proton pump inhibitor for mechanically-induced lesions [19,20] and in NSAIDs induced gastritis [21-23], the present study is the first to evaluate this association for NSAID-induced gastric damage.

## **CONCLUSION**

The association of rabeprazole with rebamipide was not able to prevent the occurrence of gastric lesions in healthy volunteers treated with 1100 mg daily of naproxen for seven consecutive days.

## **REFERENCES**

1. Ito Y, Sasaki M, Funaki Y, Ogasawara N, Mizuno M, Iida A, Izawa S, Masui R, Kondo Y, Tamura Y, Yanamoto K, Noda H, Tanabe A, Okaniwa N, Yamaguchi Y, Kasugai K. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced visible and invisible small intestinal injury. *J Clin Biochem Nutr.* 2013 Jul;53(1):55-9.
2. Arakawa T, Higuchi K, Fujiwara Y, Watanabe T, Tominaga K, Sasaki E, Oshitani N, Yoshikawa T, Tarnawski AS. 15th anniversary of rebamipide: looking ahead to the new mechanisms and new applications. *Dig Dis Sci.* 2005 Oct;50 Suppl 1:S3-S11.
3. Kim JH, Park SH, Cho CS, Lee ST, Yoo WH, Kim SK, Kang YM, Rew JS, Park YW, Lee SK, Lee YC, Park W, Lee DH. Preventive efficacy and safety of rebamipide in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced mucosal toxicity. *Gut Liver.* 2014 Jul;8(4):371-9.
4. Lai Y, Zhong W, Yu T, Xia ZS, Li JY, Ouyang H, Shan TD, Yang HS, Chen QK. Rebamipide Promotes the Regeneration of Aspirin-Induced Small-Intestine Mucosal Injury through Accumulation of  $\beta$ -Catenin. *PLoS One.* 2015 Jul 2;10(7):e0132031.
5. Watanabe T, Takeuchi T, Handa O, Sakata Y, Tanigawa T, Shiba M, Naito Y, Higuchi K, Fujimoto K, Yoshikawa T, Arakawa T. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of high-dose rebamipide treatment for low-dose aspirin-induced moderate-to-severe small intestinal damage. *PLoS One.* 2015 Apr 15;10(4):e0122330.
6. Jaafar MH, Safi SZ, Tan MP, Rampal S, Mahadeva S. Efficacy of Rebamipide in Organic and Functional Dyspepsia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci.* 2017 Dec 1. doi: 10.1007/s10620-017-4871-9. [Epub ahead of print]

7. Gagliano-Jucá T, Moreno RA, Zaminelli T, Napolitano M, Magalhães AF, Carvalhaes A, Trevisan MS, Wallace JL, De Nucci G. Rebamipide does not protect against naproxen-induced gastric damage: a randomized double-blind controlled trial. *BMC Gastroenterol*. 2016 Jun 4;16(1):58.
8. Karch FE, Lasagna L. Toward the operational identification of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther*. 1977;21(3):247–54.
9. Cryer B, Feldman M. Effects of very low dose daily, long-term aspirin therapy on gastric, duodenal, and rectal prostaglandin levels and on mucosal injury in healthy humans. *Gastroenterology*. 1999;117(1):17–25.
10. Naito Y, Yoshikawa T, Iinuma S, Yagi N, Matsuyama K, Boku Y, et al. Rebamipide protects against indomethacin-induced gastric mucosal injury in healthy volunteers in a double-blind, placebo-controlled study. *Dig Dis Sci*. 1998;43(9 Suppl):83S–9S.
11. Castellsague J, Riera-Guardia N, Calingaert B, Varas-Lorenzo C, Fourrier-Reglat A, Nicotra F, Sturkenboom M, Perez-Gutthann S; Safety of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (SOS) Project. Individual NSAIDs and upper gastrointestinal complications: a systematic review and meta-analysis of observational studies (the SOS project). *Drug Saf*. 2012 Dec 1;35(12):1127-46.
12. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ; VIGOR Study Group. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med*. 2000 Nov 23;343(21):1520-8.

13. Marlicz W, Loniewski I, Grimes DS, Quigley EM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, proton pump inhibitors, and gastrointestinal injury: contrasting interactions in the stomach and small intestine. *Mayo Clin Proc.* 2014; 89(12):1699–1709.
14. Kim HK, Kim JI, Kim JK, Han JY, Park SH, Choi KY, Chung IS. Preventive effects of rebamipide on NSAID-induced gastric mucosal injury and reduction of gastric mucosal blood flow in healthy volunteers. *Dig Dis Sci.* 2007 Aug;52(8):1776-82.
15. Park SH, Cho CS, Lee OY, Jun JB, Lin SR, Zhou LY, Yuan YZ, Li ZS, Hou XH, Zhao HC, Kachintorn U, Kositchaiwat C, Lertkupinit C. Comparison of Prevention of NSAID-Induced Gastrointestinal Complications by Rebamipide and Misoprostol: A Randomized, Multicenter, Controlled Trial-STORM STUDY. *J Clin Biochem Nutr.* 2007 Mar;40(2):148-55.
16. Naito Y, Iinuma S, Yagi N, Boku Y, Imamoto E, Takagi T, Handa O, Kokura S, Yoshikawa T. Prevention of Indomethacin-Induced Gastric Mucosal Injury in Helicobacter pylori-Negative Healthy Volunteers: A Comparison Study Rebamipide vs Famotidine. *J Clin Biochem Nutr.* 2008 Jul;43(1):34-40.
17. Gargallo CJ, Sostres C, Lanas A. Prevention and Treatment of NSAID Gastropathy. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2014 Dec;12(4):398-413.
18. Jaworski T, Sarosiek I, Sostarich S, Roeser K, Connor M, Brotze S, Wallner G, Sarosiek J. Restorative impact of rabeprazole on gastric mucus and mucin production impairment during naproxen administration: its potential clinical significance. *Dig Dis Sci.* 2005 Feb;50(2):357-65.
19. Wang J, Guo X, Ye C, Yu S, Zhang J, Song J, Cao Z, Wang J, Liu M, Dong W. Efficacy and safety of proton pump inhibitors (PPIs) plus rebamipide for

- endoscopic submucosal dissection-induced ulcers: a meta-analysis. *Intern Med*. 2014;53(12):1243-8.
20. Nishizawa T, Suzuki H, Kanai T, Yahagi N. Proton pump inhibitor alone vs proton pump inhibitor plus mucosal protective agents for endoscopic submucosal dissection-induced ulcer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Biochem Nutr*. 2015 Mar;56(2):85-90.
21. Mizukami K, Murakami K, Abe T, Inoue K, Uchida M, Okimoto T, Kodama M, Fujioka T. Aspirin-induced small bowel injuries and the preventive effect of rebamipide. *World J Gastroenterol*. 2011 Dec 14;17(46):5117-22.
22. Bunno M, Gouda K, Yamahara K, Kawaguchi M. A Case-Control Study of Esomeprazole Plus Rebamipide vs. Omeprazole Plus Rebamipide on Post-ESD Gastric Ulcers. *Jpn Clin Med*. 2013 Mar 6;4:7-13.
23. Nakamura K, Ihara E, Akiho H, Akahoshi K, Harada N, Ochiai T, Nakamura N, Ogino H, Iwasa T, Aso A, Iboshi Y, Takayanagi R. Limited Effect of Rebamipide in Addition to Proton Pump Inhibitor (PPI) in the Treatment of Post-Endoscopic Submucosal Dissection Gastric Ulcers: A Randomized Controlled Trial Comparing PPI Plus Rebamipide Combination Therapy with PPI Monotherapy. *Gut Liver*. 2016 Nov 15;10(6):917-924.

## ABBREVIATIONS

NSAIDS, non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs; GI, induce gastrointestinal; H. pylori, helicobacter pylori; b.i.d., bis in die; HE, hematoxylin and eosin

## ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

The study protocol was approved by the Committee of Research Ethics of the University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil (approval number 1.006.342). All study subjects gave written informed consent before entering the study.

## **CONSENT FOR PUBLICATION**

Written consent to publish the identifiable information and the images of the volunteer's endoscopic procedures, as well as the identifiable information of the endoscopist that performed the exams were obtained.

## **AVALIABILITY OF DATA AND MATERIALS**

All the data supporting the findings of the study is contained within the manuscript and its supplementary files.

## **COMPETING INTERESTS**

The authors declare that they have no competing interests.

## **FUNDING**

The study was funded by Biolab Indústria Farmacêutica Ltda. The funding body approved the study design and the methods that were used for data acquisition and analysis, but had no involvement with the interpretation of data or with the composition of the manuscript.

## **AUTHORS' CONTRIBUTIONS**

GDM e GDN designed the research; VPT, RAM, GDM e GDN performed the research; VPT, AS, RAM, GDM e GDN analyzed the data; VPT, GDM e GDN wrote the paper. All authors read and approved the final manuscript.

## **ACKNOWLEDGMENT**



The authors thank Dr. Thiago Gagliano-Jucá for his critical review of the present manuscript. This clinical trial was funded by Biolab Sanus Farmacêutica Ltda.

#### **AUTHORS' INFORMATION**

Not applicable.